

# BRUNNEN



28.7.07 17p. 2010  
240-680632-4

5A2.2 кепро-  
H 46 химия  
1979 90к.

04.05.02. 413574

071478 3.03.02

17.12.11 42890

4.03.12 200

29.06.12 8696

ЖК

680632-4



ЛЕНИНГРАДСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА  
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ имени А. А. ЖДАНОВА

# НЕЙРОХИМИЯ

(избранные разделы)

*Учебное пособие*

Под редакцией проф. М. И. Прохоровой



ИЗДАТЕЛЬСТВО ЛЕНИНГРАДСКОГО УНИВЕРСИТЕТА  
ЛЕНИНГРАД. 1979



5A2.2  
H 46  
28.704 ✓

ЭК.

Печатается по постановлению  
Редакционно-издательского совета  
Ленинградского университета

**Нейрохимия (избранные разделы):** Учебн. пособие / Прохорова М. И., Ещенко Н. Д., Туманова С. Ю., Осадчая Л. М., Флеров М. А. Под ред. М. И. Прохоровой — Л.; Изд-во Ленингр. ун-та, 1979. — 267 с. Ил. — 36, табл. — 39, библиогр. — 62 назв.

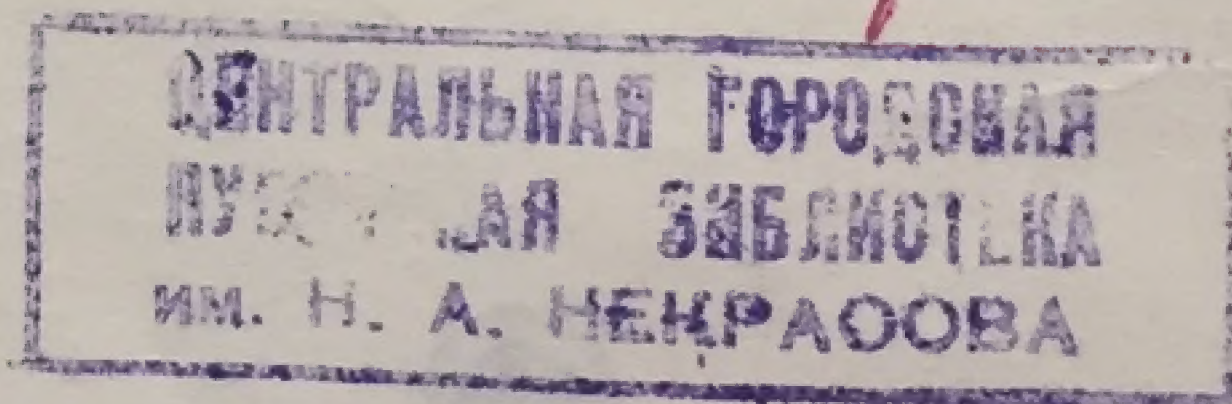
В основу учебного пособия положен курс лекций по нейрохимии, читаемый авторами на кафедре биохимии Ленинградского университета. В данном пособии изложены основные вопросы нейрохимии: характерные особенности биохимии нервной системы и методы, используемые для ее исследования; рассмотрен состав и метаболизм белков, аминокислот, липидов нервной ткани; обсуждаются особенности регуляции энергетического метаболизма мозга, основы нейрологической памяти и действие нейромедиаторов.

Книга рассчитана на студентов и аспирантов-биохимиков, а также может быть полезна биофизикам, физиологам и другим специалистам биологам и медикам, интересующимся вопросами нейрохимии.

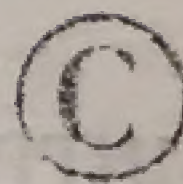
hfs

680632-4

Пр 2010 +



Н  $\frac{21005-124}{076(02)-79}$  121-79 2007020000



Издательство  
Ленинградского  
университета, 1979 г.

28.704 я 73



### ЗАМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ

На стр. 149 в подписях к рис. 20 и 21 вместо (Глебов, 1976) следует читать (Старостина, 1977).

---

Зак. 57



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Глава 1. Биохимические особенности нервной системы, пути и методы изучения	5
1.1. Особенности состава и метаболизма нервной ткани	—
1.2. Основные направления изучения биохимии нервной системы	8
1.3. Методы изучения биохимических процессов	11
Глава 2. Интенсивность метаболизма в интактном головном мозгу	16
2.1. Кровоснабжение головного мозга	—
2.2. Роль цереброспинальной жидкости и гемато-энцефалического барьера	18
2.3. Определение скорости мозгового кровообращения и обмена веществ по артерио-венозной разнице	22
2.4. Интенсивность метаболизма в головном мозгу целостного организма и в срезах мозга	25
Глава 3. Энергетический обмен головного мозга	31
3.1. Потребление головным мозгом кислорода и глюкозы	—
Особенности дыхания различных структур мозга	32
Потребление головным мозгом глюкозы	34
Гликоген как возможный энергетический источник в головном мозгу	37
3.2. Особенности регуляции реакций окисления глюкозы в головном мозгу	38
Гексокиназная реакция	40
Соотношение путей метаболизма глюкозо-6-фосфата в мозгу	42
Фосфофруктокиназная реакция	44
Конечные этапы гликолиза в головном мозгу	46
Лактатдегидрогеназная реакция	48
3.3. Цикл трикарбоновых кислот и механизмы, контролирующие его скорость в мозгу	49
Основные источники пула метаболитов ЦТК. Пути образования ацетил-КоА	50
Использование аминокислот в качестве предшественников компонентов ЦТК	54



Цитратсинтазная реакция и регуляция ее скорости в головном мозгу	57
Изоцитратдегидрогеназные реакции и их регуляция в головном мозгу	59
3.4. Компоненты дыхательной цепи митохондрий и их соотношение в головном мозгу	62
3.5. Макроэргические соединения в мозгу, интенсивность их образования и использования	64
Характеристика фонда макроэргических соединений мозга	66
Способы оценки скорости энергетического метаболизма в мозгу	—
Энергообеспечение специфических для головного мозга процессов	67

#### Глава 4. Липиды центральной нервной системы

4.1. Липиды — компоненты нейрональных мембран	69
Молекулярная организация мембран	75
Структура липидного бимолекулярного слоя	—
Фазовые переходы липидов	77
4.2. Особенности липидного состава головного мозга	81
Жирнокислотный состав липидов головного мозга	82
Накопление липидов в процессе развития головного мозга	88
Некоторые аспекты липогенеза в головном мозгу	90
4.3. Липидный состав нейрональных и глиальных мембран	93
Состав и структура ганглиозидов головного мозга	94
Метаболическая активность ганглиозидов	97
Функциональная роль ганглиозидов	101
Ганглиозидозы	104
	105
	109

#### Глава 5. Миелин

5.1. Липидный состав миелина	111
5.2. Характеристика белков миелина	—
5.3. Формирование миелина нервной системы	115
5.4. Структура мембраны миелина	119
5.5. Демиелинизация	120
	126

#### Глава 6. Белки нервной системы

6.1. Основные этапы исследования белков в нервной ткани	130
6.2. Характеристика отдельных представителей простых белков головного мозга	—
Нейроальбумины и нейроглобулины	132
Основные белки нервной ткани (гистоны и негистоны)	—
Нейросклеропротеиды	136
6.3. Характеристика отдельных представителей сложных белков головного мозга	138
Липопротеиды	139
Протеолипиды	140
Фосфопротеиды	141
6.4. Специфические белки нервной ткани	143
Характеристика специфических кислых белков	144
Гликопротеиды и их функциональная роль	145
Сократительные белки нервной ткани	152
Катионные белки	156
6.5. Интенсивность метаболизма белков в различных отделах нервной системы	160
6.6. Метаболизм белков в субклеточных структурах нейронов	162
Биосинтез белка в рибосомальных фракциях нейронов	165
Метаболизм белков в цитоплазме и в ядрах нейронов	166
Метаболизм белков в митохондриях нейронов	169
	171
	269



Метаболизм белков в синаптических образованиях	172
Роль аксоплазмы и аксонального тока в деятельности нейронов	176
6.7. Изменение интенсивности обмена белков нервной системы при различных функциональных состояниях организма	178
<b>Глава 7. Аминокислоты и пептиды головного мозга</b>	<b>183</b>
7.1. Содержание, локализация и транспорт свободных аминокислот	—
7.2. Метаболизм индивидуальных аминокислот	186
Глутамат и аспартат	—
N-ацетиласпарагиновая кислота	190
Гамма-аминомасляная кислота	191
Глицин и пути его обмена	192
Серусодержащие аминокислоты	194
7.3. Нейротрансмиссерная роль аминокислот	196
7.4. Компартиментализация обмена аминокислот	—
7.5. Олигопептиды нервной ткани (нейропептиды)	199
Гистидинсодержащие пептиды мозга	200
Гамма-глутамилпептиды мозга	—
N-ацетилированные нейропептиды	202
Вещество P, его строение и физиологическое действие	203
7.6. Гипофизарные и гипоталамические пептиды и их функциональная роль в ЦНС	204
Влияние пептидов на адаптивные поведенческие реакции	—
Нейрогипофизарные пептиды, действующие на нейрональную возбудимость	205
Действие либеринов и статинов на нейрональную активность	207
Пептиды и болевые реакции	209
Пептиды-коннекторы	211
<b>Глава 8. Нейромедиаторы</b>	<b>213</b>
8.1. Ацетилхолин	—
Содержание, биосинтез и секреция ацетилхолина в нервной системе	—
Холинорецепторы и их взаимодействие с ацетилхолином	216
Ацетилхолинэстераза, свойства и механизм инактивации ацетилхолина	217
8.2. Биогенные амины	220
Катехоламины	—
Участие моноаминоксидазы в превращениях катехоламинов	223
8.3. Серотонин и его участие в функциональной деятельности головного мозга	227
8.4. Гамма-аминомасляная кислота	229
8.5. Аминокислоты — возможные нейромедиаторы ЦНС	230
<b>Глава 9. Биохимические основы неврологической памяти</b>	<b>233</b>
9.1. Неврологическая память	234
9.2. Характеристика неврологической памяти	235
9.3. Биохимические основы кратковременной памяти	240
9.4. Характеристика промежуточного этапа неврологической памяти (стадии консолидации)	243
9.5. Биохимические основы долговременной памяти	246
Роль РНК в формировании долговременной памяти	—
Роль белков в формировании долговременной памяти	248
Биохимические процессы, происходящие в период хранения долговременной памяти	252



ней-	172	
стемы	176	
	178	
инно-	183	
	186	
	190	
	191	
	192	
	194	
	196	
	199	
	200	
	202	
но-	203	
	204	
ую	—	
	205	
сть	207	
	209	
	211	
	213	
	—	
ой	—	
	216	
и	217	
	220	
	—	
в	223	
и	227	
	229	
	230	
	233	
	234	
	235	
	240	
	243	
	246	
	—	
	248	
	252	
		9.6. Химический перенос нейрологической памяти с участием
		нейропептидов
		9.7. Информационная емкость макромолекул головного мозга
		9.8. Воспроизведение (воспоминание) долговременной памяти
		Приложение
		Рекомендуемая литература
		255
		258
		261
		265



учебн. посо-  
Ю., Осадчая  
Л.; Изд-во  
библиогр. —

по нейрохи-  
инградского  
опросы ней-  
системы и  
ен состав и  
ни; обсуж-  
изма мозга,  
аторов.  
биохимиков,  
и другим  
вопросами

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Биохимия нервной системы, являясь одним из важнейших разделов современной биохимии, за последние 20—25 лет исследовалась углубленно и исключительно интенсивно. Этому способствовали прежде всего современный уровень развития биохимических исследований как в теоретическом, так и в методическом отношении, успехи молекулярной биологии и ряда других биологических и медицинских наук (нейроцитологии, нейрофизиологии, психофармакологии и т. д.). На интенсивное изучение нейрохимии огромное влияние оказывали такие факторы, как исключительно широкое применение разнообразных психофармакологических, наркотических и других веществ, а также повышение неврологических заболеваний, включая и генетические, в основе которых лежат глубокие нарушения биохимических процессов, протекающих в нервной ткани. Кроме того, в связи с резким увеличением потока информации и повышением интеллектуальной деятельности современного человека в настоящее время приобретают исключительное значение исследования, посвященные изучению биохимических основ памяти, обучения, оптимальных биохимических условий эффективного функционирования головного мозга и т. д. Поэтому исследования биохимических основ нервной деятельности приобретают особую значимость и актуальность.

Несмотря на сложность и большие трудности, связанные с изучением проблем нейрохимии, в настоящее время эти направления интенсивно разрабатываются во многих лабораториях мира, в том числе и в нашей стране. После организации Международного нейрохимического общества (1965 г.) систематически проводятся Международные нейрохимические конгрессы (конференции), привлекающие исключительно большое число участников. В СССР Всесоюзная конференция, посвященная биохимии нервной системы, была впервые проведена



в 1953 г. В последнее время почти ежегодно проводятся симпозиумы, совещания и школы, посвященные нейрохимии.

Кроме изданий трудов конференций и симпозиумов в отечественной литературе регулярно печатаются статьи по биохимии нервной системы. В «Журнале эволюционной биохимии и физиологии» освещаются вопросы нейрохимии, связанные с онто- и филогенезом. Биохимическим институтом АН Арм.ССР ежегодно издается сборник «Вопросы биохимии мозга». Физиологическим институтом им. А. А. Ухтомского Ленинградского университета с 1960 г. издано более 20-ти сборников «Нервная система», в которых систематически освещаются вопросы, связанные с биохимией нервной системы.

За последние 15 лет издан ряд монографий по нейрохимии: А. В. Палладин, Я. В. Белик, Н. М. Полякова «Белки головного мозга и их обмен» (Киев, 1972); М. С. Гаевская «Биохимия мозга при умирании и оживлении организма» (Москва, 1963); Г. С. Хачатрян «Биохимия мозга при нормальных физиологических условиях» (Ереван, 1967); Е. Ф. Иваненко «Биохимия мозга при наркозе» (Ленинград, 1972); З. Д. Пигарева «Биохимия развивающегося мозга» (Москва, 1972); И. П. Ашмарин «Загадки и откровения памяти» (Ленинград, 1975); «Нейрохимия» под ред. А. А. Кричевской (Ростов-на-Дону, 1977) Н. Н. Демин, А. Б. Коган, Н. Н. Моисеева «Нейрофизиология и нейрохимия сна» (Ленинград, 1978); «Вопросы биохимии нервной и мышечной систем». Вып. 3. Сборник статей. Под ред. В. Н. Чикваидзе (Тбилиси, 1979).

В Ленинградском университете в 50-х годах читался курс «Функциональная биохимия», в котором был раздел «Биохимия мозга». С начала 60-х годов был создан самостоятельный курс «Биохимия нервной системы», позже переименованный в курс «Нейрохимия». В настоящее время в ряде университетов СССР читаются подобные курсы по нейрохимии. Однако учебные пособия в СССР по данному предмету отсутствуют. Переводная монография Г. Мак-Ильвейна «Биохимия и центральная нервная система», выпущенная в 1962 г., к настоящему времени устарела.

В представленном пособии главы 1, 2, 6 и 9 написаны проф. М. И. Прохоровой; глава 3 — канд. биол. наук Н. Д. Ещенко; главы 4 и 5 — канд. биол. наук С. Ю. Тумановой; глава 7 — канд. биол. наук Л. М. Осадчей; глава 8 — канд. биол. наук М. А. Флеровым.



## Глава 1

# БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, ПУТИ И МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ

Нервная система представляет собой исключительно сложную, гетерогенную и при этом уникальную биологическую систему как в структурно-морфологическом, так и функциональном отношении. Одной из важнейших функций центральной нервной системы является ее регулирующая и интегрирующая роль по отношению к биохимическим процессам, происходящим в целостном организме человека и животных. Этим в значительной мере и определяются специфические особенности состава и метаболизма, происходящего в нервной ткани, а также наличие в нервной системе сложных компенсаторных и регуляторных механизмов.

### 1.1. ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И МЕТАБОЛИЗМА НЕРВНОЙ ТКАНИ

1. Для нервной ткани в целом, и особенно для головного мозга, характерно наличие специфических надмолекулярных образований, представляющих собой сложные комплексы разнообразных белковых и небелковых компонентов, а также возникновение особых межклеточных связей, образующих ансамбли (ассоциации) нейронов по функциональному признаку.

2. Высокое содержание липидов существенно отличает нервную ткань от других органов и тканей. Липиды в значительной мере определяют сложность и своеобразие мембран и надмолекулярных образований (миелин и т. д.) нервной системы. Они составляют не менее 50% сухого остатка нервной ткани. При этом на долю фосфолипидов приходится половина, холестерина составляет около 25%, примерно столько же содержится гликопротеидов. В состав нервной ткани входят специфические липиды: ганглиозиды, ди- и трифосфоинозитиды, которые в других органах и тканях отсутствуют или обнаруживаются в ничтожных количествах.



3. Одним из наиболее характерных особенностей мозговой ткани является постоянный и притом высокий уровень энергетического обмена, приводящий к интенсивному потреблению мозговой тканью глюкозы и кислорода крови и выделению в кровь углекислоты.

4. Одним из важнейших метаболитов головного мозга является глюкоза, поступающая в мозговую ткань преимущественно из крови. При этом глюкоза является не только основным энергетическим источником нервной ткани, но и важнейшим предшественником для биосинтеза аминокислот, особенно глутамата, аспартата, аланина, глицина и других метаболитов.

5. В отличие от других органов и тканей в головном мозгу происходит интенсивный метаболизм моноаминодикарбоновых кислот и других аминокислот. Они синтезируются из глюкозы и ацетата, а также взаимопревращаются друг в друга. Аминокислоты мозга, особенно глутамат, используются в качестве энергетических источников. Кроме того, аминокислоты в нервной ткани служат не только источником для биосинтеза разнообразных белков и ряда гормонов, но и являются непосредственными предшественниками нейромедиаторов и нейропептидов, выполняющих специфическую функцию в деятельности нервной системы.

6. Для нервной ткани и прежде всего коры больших полушарий характерна исключительная чувствительность к гипоксии и гипогликемии. Нервная система определяется высоким уровнем энергетического обмена, поскольку основные специфические функции ее (например, активный транспорт ионов  $\text{Na}^+$  и ряда других метаболитов в период возникновения и проведения нервных импульсов) связаны с большой затратой энергии. В то же время резервы макроэргов, а также глюкозы и других энергетических источников в мозговой ткани невелики.

7. За последнее время в нервной ткани обнаружены специфические белки, преимущественно гликопротеиды, а также разнообразные нейропептиды, участвующие в специфических функциях нейронов.

8. Важное значение в нервной ткани приобретают альтернативные пути превращения ряда метаболитов (пирувата,  $\alpha$ -кетоглутарата и др.), которые занимают «ключевое» место в поддержании постоянного и притом высокого уровня обмена. При определенных условиях эти метаболиты с участием соответствующих регуляторных механизмов наиболее эффективно метаболируют по тому или иному пути.

9. Для нейронов головного мозга и других отделов нервной системы характерна отчетливо выраженная компартментализация, т. е. пространственная разобщенность различных метаболических процессов, протекающих в разных участках ней-



рона. Особенно это проявляется в разнообразных процессах, в которых участвуют аминокислоты и другие метаболиты.

10. Нервная ткань характеризуется наличием разнообразных сложных компенсаторных механизмов на различных уровнях: молекулярном (ферментативном), цитологическом (система «нейрон $\rightleftharpoons$ нейроглия») и анатомо-морфологическом (кровь, цереброспинальная жидкость и гемато-энцефалический барьер).

11. Высокий энергетический уровень в головном мозгу обеспечивается наличием потенциальных возможностей ряда ферментов (лактатдегидрогеназы, глутаматдегидрогеназы, НАД-зависимых ферментов цикла трикарбоновых кислот и др.), активность которых в норме реализуется в пределах 0,5—10%. Однако при определенных условиях в течение некоторого времени активность этих ферментов может повышаться в 10 и более раз.

12. Нервная ткань располагает исключительно огромными компенсаторными возможностями благодаря наличию системы нейрон $\rightleftharpoons$ нейроглия. Между нейронами и разнообразными клетками нейроглии существует теснейшая метаболическая связь, образующая своеобразный «симбиоз», который обеспечивает специфические и притом важнейшие функции нервной ткани, а именно: возникновение и проведение нервного импульса, формирование и хранение долговременной памяти и т. д.

13. Специфическое строение артериальной и венозной системы мозгового кровообращения, наличие цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), а также существование гемато-энцефалического барьера (ГЭБ) являются важнейшими компенсаторными механизмами, обеспечивающими нормальное функционирование различных отделов центральной и периферической нервной системы.

14. Одной из наиболее характерных особенностей нервной системы является ее высокая пластичность (динамичность) при сохранении стабильности состава. Эта особенность связана прежде всего с наличием в нейронах синаптических образований, количество которых при различных состояниях резко меняется из-за непрерывного образования синапсов и их распада; в одном нейроне может быть от 30 до 1000 синапсов. Одновременно благодаря синаптическим структурам возникают связи (контакты) как внутри нейрона, так и между отдельными нейронами не только по локальному, но и функциональному признаку.

15. В нейронах имеется специфическая морфо-функциональная система (аксоплазма и аксональный ток), с помощью которой осуществляется непрерывный прямой и ретроградный перенос различных пластических и энергетических веществ от тела нейрона до синаптических окончаний и обратно, а также происходит биосинтез необходимых метаболитов. Все это обеспечивает постоянную интенсивную метаболическую связь тела



нейрона с синаптическими образованиями. Следовательно, нейрон в целом, и особенно функционирующие компартменты (зоны), находятся в динамическом состоянии, что в значительной степени объясняет высокую метаболическую активность нервной ткани.

16. Одним из важнейших регуляторных центров метаболических процессов в головном мозгу является гипоталамус — гипофиз. Регуляция метаболических процессов осуществляется путем непрерывного функционирования системы «гипоталамус — гипофиз» и соответствующих желез внутренней секреции (ЖВС): надпочечников, поджелудочной, щитовидной, половых желез и т. д. Эти системы, т. е. регулирующие центры, функционируют благодаря продуцированию гипоталамическими ядрами специфических нейропептидов — релизинг-факторов: соматостатина (тетрадекапептид); пролактин-релизинг-фактора (декапептид); тиреотропин-релизинг-фактора (трипептид); субстанции Р (ундекапептид); нейротензина (тридекапептид) и ряда других нейропептидов, участвующих в регуляции метаболических процессов. Кроме того, в ядрах гипоталамуса синтезируются специфические белки нейрофизины, которые образуют комплексы с вазопрессином и окситоцином.

Таким образом, перечисленные биохимические особенности структуры, состава и метаболизма, несомненно, отражают характерные свойства нервной ткани. *Однако только совокупность их определяет своеобразие и уникальность нервной системы и тем самым обеспечивает специфические функции нервной ткани, а также ее регулирующую и интегрирующую роль в целостном организме.*

## 1.2. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Одним из перспективных и актуальных направлений нейрoхимии является изучение химического состава нервной системы и биохимических основ нервной деятельности на различных уровнях, начиная от молекулярного и кончая целостным организмом. Изучение биохимических процессов на молекулярном уровне представляет собой одно из важнейших направлений современной нейрoхимии. Известно, что скорость биохимических реакций определяется рядом факторов: концентрацией ферментов, рН среды, энергетическим барьером, наличием активаторов и ингибиторов отдельных ферментов и т. д. Поскольку скорость биохимических реакций зависит от изменения и взаимодействия многих факторов, то теоретически возможно очень много вариантов, которые могут направить биохимический процесс по тому или иному пути. Однако следует иметь в виду, что в животном организме, особенно в головном мозгу, существуют жесткие условия проведения реакций: незначи-



тельные колебания рН, изменения концентрации важнейших метаболитов, энергетических веществ, активаторов, ингибиторов ферментов и т. д. в значительной мере ограничивают пределы изменения возможных скоростей биохимических реакций.

Поэтому, изучая на молекулярном уровне факторы, влияющие на кинетику ферментативных процессов, а также зная конкретные условия, при которых протекают те или иные биохимические реакции, можно путем расчетов и с достаточной точностью в отдельных случаях определить возможные скорости биохимических процессов в изучаемых органах и тканях. Однако в настоящее время из-за отсутствия точных исходных параметров, определяющих скорость биохимических реакций на молекулярном уровне, применение математических расчетов крайне ограничено. Кроме того, перед исследователями, изучающими биохимические процессы в органах и тканях целостного организма, встает трудная задача: в какой мере данные, полученные на молекулярном уровне, можно использовать при изучении биохимических процессов, происходящих не только в клетках, но и в органах и тканях целостного организма? Хорошо известно, что перенесение полученных биохимических данных с молекулярного уровня на целостный организм сопряжено с большими погрешностями, поскольку на последующих уровнях, а именно на субклеточном и клеточном, не говоря уже о целостном организме, имеют место иные условия, появляются новые факторы, определяющие скорость биохимических реакций. Отсюда возникает необходимость изучения биохимических процессов на различных уровнях и прежде всего на субклеточном.

В настоящее время убедительно показано, что субклеточные структуры отличаются друг от друга не только химическим составом, но и локализацией, т. е. в них происходит компартментализация определенных биохимических процессов. В субклеточных структурах биохимические процессы представляют собой координированную цепь реакций, катализируемых полиферментативными системами. Таким образом, отдельные субклеточные структуры специализированы в отношении определенных биохимических процессов. Кроме того, на субклеточном уровне начинает проявляться регуляторный механизм по типу обратной связи. Этот регуляторный механизм носит название «ингибирование конечным продуктом». Как оказалось, этот механизм является проявлением более общего регуляторного механизма, т. е. аллостерического эффекта, представляющего собой биологически важное приспособление, возникающее в процессе эволюции живых организмов. На клеточном уровне происходит интеграция биохимических процессов, которая возникает при взаимодействии различных биохимических процессов, происходящих в субклеточных структурах. В результате этого взаимодействия в клетке наступает дина-



мическое равновесие обменных процессов, причем взаимодействие биохимических процессов на клеточном уровне часто является конкурирующим. Кроме того, на клеточном уровне начинает также проявляться гормональное воздействие. Известно, что ряд гормонов (инсулин, тироксин и др.), оказывая влияние на определенные ферменты, участвуют в регуляции биохимических процессов. При этом необходимо отметить, что взаимодействие между гормонами и ферментами на клеточном уровне представляет собой новый, мощный регуляторный механизм, оказывающий непосредственное влияние на ферментативные процессы. Что же касается влияния нервной системы на метаболизм, то ее действие на клеточном уровне, как правило, проявляется через деятельность желез внутренней секреции, так как продуцирование гормонов теснейшим образом связано с деятельностью ЖВС. Таким образом, интеграция биохимических процессов, лежащих в основе физиологических функций, обеспечивает осуществление важнейших биологических процессов — рост, размножение, деление, дифференцировку и т. д. Эти процессы необходимы для нормальной жизнедеятельности как одноклеточных, так и многоклеточных организмов.

Еще более сложные регуляторные механизмы имеют место у высокоорганизованных животных, и доминирующими факторами в регуляции деятельности органов и тканей целостного организма являются нервно-гуморальные механизмы.

В морфологическом и физиологическом отношении наиболее сложным является головной мозг. Его следует рассматривать как сложнейшую систему, состоящую из областей (частей, зон), каждая из которых выполняет определенную функцию. Так, например, система «гипоталамус — гипофиз» является одним из важнейших регуляторных центров биохимических процессов, происходящих в головном мозгу.

При изучении функциональной специфичности различных отделов головного мозга представляет исключительный интерес изучение состава и структуры пластических веществ головного мозга. Как известно, в нервной ткани пластические вещества образуют сложные, своеобразные структуры (комплексы). Что же касается функциональной специфичности различных отделов (частей, зон и т. д.) мозга, то она зависит, как нам кажется, прежде всего от особенностей пластических веществ, которые образуют специфические структуры, определяющие деятельность различных отделов головного мозга. В этой связи немаловажный интерес представляют белки и липиды мозга, составляющие основную массу всех пластических веществ. Белки и липиды отличаются большим разнообразием и способностью образовывать с другими соединениями сложные комплексы, которые определяют физико-химические свойства и особенности метаболизма мозговой ткани.



Все сказанное обогатило биохимические исследования, а главное способствовало исключительно интенсивному и значительно более углубленному изучению биохимических процессов на различных уровнях, особенно на молекулярном и субклеточном. Достижения в этом направлении оказали огромное влияние на развитие многих областей современной биологии и медицины, включая и нейрохимию. Одним из актуальнейших направлений функциональной нейрохимии является исследование механизмов на различных уровнях, а также изучение их взаимосвязей, взаимопревращений и взаимопереходов, так как механизмы, регулирующие на более низких уровнях, не просто устраняются или маскируются, а снимаются, что соответствует философскому понятию «снятие». Тем более, что целое, как правило, приобретает свойство, которое не было в полной мере присуще его составным частям.

Для современной нейрохимии изучение целостного организма является, несомненно, актуальным направлением, так как синтетический подход способствует решению многих кардинальных вопросов современной функциональной нейрохимии, особенно изучению метаболизма целостного организма. Современные физико-химические, биохимические, физиологические и цитоморфологические методы позволяют с большой точностью изучать биохимические процессы на молекулярном, субклеточном, клеточном уровнях. Поэтому следует обратить особое внимание на разработку и усовершенствование методов, которые позволили бы значительно расширить возможности более углубленного изучения биохимических процессов как в целом головном мозгу, так и в его отделах, областях и т. д.

### 1.3. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

За последние 30 лет в биохимических исследованиях произошли коренные изменения, вызванные исключительно широким использованием новейших химических, физических, физико-химических и разнообразных биохимических методов исследования. В этот же период были усовершенствованы физиологические методы и прежде всего микроэлектродная техника, в результате чего физиологи получили возможность проводить исследования на клеточном и субклеточном уровнях. Применение электронной микроскопии и цитохимических методов позволило морфологам совместно с биохимиками и физиологами комплексно подойти к разработке ряда кардинальных вопросов, таких как структура и функции субклеточных образований, проведение нервного импульса и т. д. При этом следует отметить, что за последние два-три десятилетия были разработаны и усовершенствованы такие химические и физические методы, как спектроскопия (в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях), флуориметрия и другие, благодаря которым



чувствительность и точность количественного определения в биологических субстратах возросли в  $10^4$ — $10^6$  раз. С помощью современных методов исследования стало возможным определять вещества, содержащиеся в биологических системах, в том числе и в нервной ткани, в пределах 0,1—0,001 мкг.

Животные ткани, особенно нервная ткань, характеризуются большим разнообразием метаболитов, участвующих в биохимических процессах. Многие из них играют чрезвычайно важную роль в обменных процессах нервной ткани, хотя они содержатся в ничтожных количествах. Например, глюкоза является не только основным энергетическим источником, но и важнейшим предшественником разнообразных метаболитов (аминокислот, жирных кислот и т. д.) в головном мозгу. В то же время ее содержание в нервной ткани животных и человека находится в пределах 1,0—2,0 мкмоль/г. Пировиноградная кислота, играющая исключительно большую роль в ряде биохимических процессов головного мозга, составляет только 0,15 мкмоль/г. Лимонная кислота, являющаяся, как известно, важнейшим компонентом аэробного окисления углеводов, липидов и аминокислот, содержится в головном мозгу в количестве 0,25—0,30 мкмоль/г. Суммарное содержание свободных жирных кислот в мозговой ткани составляет не более 1—2 мкмоль/г. Незначительное количество приходится также на долю специфических липидов — ганглиозидов, дифосфоинозитидов и трифосфоинозитидов, участвующих непосредственно в функционировании нервной системы. При расчете на 1 г мозга ганглиозиды содержатся в количестве 1,50 мг, дифосфоинозитиды — 0,60 и трифосфоинозитиды — 0,36 мг. Если сравнить их содержание с общим количеством липидов в 1 г мозговой ткани, то ганглиозиды будут составлять 1,5%, дифосфоинозитиды — 0,6 и трифосфоинозитиды — 0,36%. Еще в меньших количествах содержатся в мозговой ткани гормоны, нейромедиаторы, нейропептиды, их количество, как правило, находится в пределах сотых, тысячных и даже десятитысячных долей микромолей на 1 г ткани. Например, содержание адреналина в мозгу не превышает 0,0005—0,001 мкмоль/г. Это в значительной мере длительное время затрудняло изучение обменных процессов в нервной ткани. В настоящее время усовершенствование оптических и других методов привело к тому, что стало возможным определять 1 мкг ( $10^{-6}$  г) и даже 1 нг ( $10^{-9}$  г) вещества, а также обнаруживать незначительные изменения в их содержании при различных функциональных состояниях животного организма.

Благодаря интенсивной разработке и широкому применению различных методов хроматографии — бумажной, ионообменной, адсорбционной, газожидкостной (газовой) и тонкослойной — появилась возможность разделять и выделять индивидуальные вещества из животных тканей, в том числе из головного мозга. Например, для разделения с помощью газовой и тонкослойной



хроматографий требуются миллиграммы и даже микрограммы изучаемых веществ, т. е. в миллионы ( $10^6$ ) раз меньше, чем было необходимо при использовании методов осаждения и высаливания для препаративных целей. Кроме того, газовая и тонкослойная хроматографии характеризуются быстротой разделения и точностью количественного определения изучаемых соединений. Так, например, с помощью газовой хроматографии были определены количественно все жирные кислоты, находящиеся в различных отделах головного мозга. Подобные определения не могли быть выполнены другими методами.

Следует также особо отметить, что, несмотря на высокую интенсивность обменных процессов, количественное содержание многих физиологически важных веществ в головном мозгу существенно не изменяется даже при различных функциональных состояниях организма. На основании этого делались неправильные выводы о том, что те вещества, содержание которых не изменяется при различных воздействиях, являются инертными соединениями. Только благодаря применению метода меченых (радиоактивных) атомов удалось проникнуть в интимные механизмы и установить участие ряда веществ в обменных процессах, происходящих в головном мозгу. Особенность метода радиоактивной индикации состоит в том, что исследования проводятся в условиях, наиболее близких к тем, которые существуют в органах и тканях целостного организма. Это объясняется тем, что при изучении обменных процессов с помощью радиоактивных веществ, которые вводятся в ничтожных количествах, не происходит изменения нормального хода биохимических превращений.

Покажем это на конкретном примере. В своих опытах мы использовали меченые источники — глюкозу, ацетат, аминокислоты и другие, содержащие радиоактивный углерод  $^{14}\text{C}$ . Меченую глюкозу, ацетат, аминокислоты вводили в количестве от 5 до 20 мккюри на 100 г веса животного, причем такого количества было достаточно для одновременного изучения самых разнообразных биохимических процессов, происходящих как в головном мозгу, так и в других органах и тканях животного. Чтобы выяснить, в какой степени происходит разбавление радиоактивного углерода  $^{14}\text{C}$  нерадиоактивным  $^{12}\text{C}$  при введении от 0,05 до 0,2 мккюри на 1 г веса животного, мы произвели соответствующий расчет, используя период полураспада  $^{14}\text{C}$ , равный 5582 годам. Следовательно, при введении 0,05 мккюри в минуту на 1 г ткани будет распадаться 0,75 нг  $^{14}\text{C}$ , а при введении 0,20 мккюри эта величина будет соответствовать 3,0 нг  $^{14}\text{C}$ . Количество нерадиоактивного углерода, содержащегося в 1 г ткани, в среднем принимали равным 150 мг, т. е.  $1,5 \cdot 10^8$  нг.

**Пример расчета.** 1. Определение числа импульсов в минуту, приходящихся на 1 г углерода  $^{14}\text{C}$ :



$$x = \frac{A}{aT} = \frac{6,02 \cdot 10^{23}}{14 \cdot 2,94 \cdot 10^9} = 1,5 \cdot 10^{13}.$$

Здесь  $A$  — число Авогадро;  $a$  — атомный вес  $^{14}\text{C}$ ;  $T$  — период полураспада  $^{14}\text{C}$ , мин ( $5582 \cdot 365 \cdot 24 \cdot 60 = 2,94 \cdot 10^9$ ).

Далее, зная, какое количество импульсов введено животному, можно определить степень разбавления нерадиоактивным углеродом  $^{12}\text{C}$  (табл. 1).

Таблица 1

Степень разбавления углерода  $^{14}\text{C}$  углеродом  $^{12}\text{C}$ , рассчитанная на 1 г веса животного

Количество введенного $^{14}\text{C}$			нг $^{14}\text{C}$ : нг $^{12}\text{C}$	Разбавление $^{14}\text{C} : ^{12}\text{C}$
мккюри	имп/мин	нг		
0,05	$1,1 \cdot 10^5$	$\frac{1,1 \cdot 10^5}{1,5 \cdot 10^{13}} = 0,75$	$0,75 : 1,5 \cdot 10^8$	$1 : 2 \cdot 10^8$
0,20	$4,4 \cdot 10^5$	$\frac{4,4 \cdot 10^5}{1,5 \cdot 10^{13}} = 3,0$	$3,0 : 1,5 \cdot 10^8$	$1 : 5 \cdot 10^7$

Как следует из табл. 1, при введении радиоактивного препарата  $^{14}\text{C}$  в количестве 0,05 мккюри на 1 г веса животного разбавление в среднем равно 200 млн раз, а при введении 0,2 мккюри произошло разбавление в 50 млн раз. Если учесть, что большинство меченых веществ (ацетат, глюкоза, аминокислоты и др.) быстро метаболируют, окисляясь до  $^{14}\text{CO}_2$  (около 90% всего разведенного радиоактивного препарата за 1 ч), то разбавление еще увеличится примерно в 10 раз.

2. Мы вычисляли также количество энергии в калориях, излучаемое  $\beta$ -частицами  $^{14}\text{C}$ . Максимальная энергия  $\beta$ -частиц  $^{14}\text{C}$  равна 0,155 МэВ или  $5,8 \cdot 10^{-15}$  кал\*, а средняя величина энергии  $\beta$ -частиц  $^{14}\text{C}$  равна 0,062 МэВ или  $2,3 \cdot 10^{-15}$  кал. При введении 0,20 мккюри/г максимальная энергия будет выражаться следующей величиной:  $2,6 \cdot 10^{-9}$  кал/мин/г.

Из представленных расчетов следует, что энергия, излучаемая  $\beta$ -частицами  $^{14}\text{C}$  на 1 г в минуту, равна миллиардным долям калорий. Если произвести расчет на 140 г веса животного, так как опыты ставились на взрослых крысах при длительности радиоактивной экспозиции, равной 1 ч, то и в этом случае энергия, выделяемая  $\beta$ -частицами  $^{14}\text{C}$ , будет ничтожной, она составит  $2,6 \cdot 10^{-9} \cdot 140 \cdot 60 = 2,2 \cdot 10^{-5}$  кал.

\* МэВ =  $10^6$  эВ, 1 эВ =  $1,6 \cdot 10^{-12}$  эрг, 1 эрг =  $0,239 \cdot 10^{-7}$  кал, 1 эВ =  $0,38 \cdot 10^{-19}$  кал.



$^{14}\text{C}$ ;  $T$  — период  
 $10^3$ ).  
 едено животно-  
 радиоактивным

Таблица 1  
 считанная на 1 г

$^{14}\text{C}$	Разбавление $^{14}\text{C}:^{12}\text{C}$
$5 \cdot 10^8$	$1:2 \cdot 10^8$
$5 \cdot 10^8$	$1:5 \cdot 10^7$

вного препара-  
 отного разбав-  
 нии 0,2 мккюри  
 есть, что боль-  
 аминокислоты  
 $\text{O}_2$  (около 90%  
 а 1 ч), то раз-

в калориях, из-  
 ергия  $\beta$ -частиц  
 едняя величина  
 $10^{-15}$  кал. При  
 будет выра-

н/г.  
 ергия, излучае-  
 иллиардным до-  
 веса животного  
 при длительно-  
 и в этом случае  
 ничтожной, она

$9 \cdot 10^{-7}$  кал.  $1 \text{ эВ} =$

Таким образом, в опытах с  $^{14}\text{C}$ -мечеными источниками раз-  
 бавление радиоактивного углерода исключительно велико,  
 а энергия, выделяемая  $\beta$ -частицами  $^{14}\text{C}$ , ничтожна. К тому же  
 следует учесть, что  $\beta$ -частицы  $^{14}\text{C}$  характеризуются мягким из-  
 лучением. Все это дает основания считать, что выделяемая  
 энергия за счет  $\beta$ -частиц  $^{14}\text{C}$  не влияет на функциональное со-  
 стояние животных, а следовательно, и на биохимические про-  
 цессы, происходящие в животном организме.

Таким образом, сочетание методов хроматографии, особен-  
 но газовой и тонкослойной, с методами радиоактивной индика-  
 ции, оказалось исключительно плодотворным в нейрехимиче-  
 ских исследованиях.



## Глава 2

### ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА В ИНТАКТНОМ ГОЛОВНОМ МОЗГУ

#### 2.1. КРОВΟΣНАБЖЕНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В настоящее время многочисленными исследованиями убедительно показано, что наиболее характерным свойством интактного мозга является постоянный и высокий уровень энергетического обмена. В головном мозгу происходит преимущественно аэробное окисление энергетических веществ, сопряженное с окислительным фосфорилированием. В нормальных условиях дыхательный коэффициент (ДК) интактного мозга равен 0,95—1,00. Однако в мозговой ткани содержится крайне ограниченное количество глюкозы и отсутствует кислород, поэтому, чтобы головной мозг нормально функционировал, необходимо непрерывное поступление глюкозы и кислорода из артериальной крови.

**Кровеносные сосуды мозга.** В головной мозг кровь поступает из двух внутренних сонных и двух позвоночных артерий. В свою очередь, каждая внутренняя сонная артерия в полости черепа у основания мозга распадается на переднюю и среднюю мозговые артерии. Передние мозговые артерии правого и левого полушарий, пройдя некоторое расстояние, соединяются, короткой передней соединительной артерией. Позвоночные артерии у основания мозгового ствола объединяются в основную артерию, которая, пройдя небольшое расстояние, делится на задние мозговые артерии; каждая задняя мозговая артерия соединяется с внутренней сонной артерией посредством соединительной артерии. У основания мозга образуется сосудистое кольцо из сонных и позвоночных артерий, называемое виллизиевым кругом.

Таким образом, большие полушария головного мозга снабжаются кровью передней, средней и задней мозговых артерий. Стволы и ветви этих артерий располагаются на поверхности мозга в субарахноидальном пространстве, откуда берут начало артерии, входящие в мозг для питания непосредственно мозго-



вой ткани. На поверхности больших полушарий ветви одной и той же артерии и ветви различных артерий образуют между собою анастомозы и коллатерали, благодаря которым в нормальных условиях на всей поверхности мозга поддерживается постоянное внутриартериальное давление. Так, в случае закупорки одной из артерий, по анастомозам кровь перемещается из соседних артерий в то место, где возникла закупорка. На поверхности мозжечка артерии также имеют анастомозы, образующие артериальную сеть.

Мозговое кровообращение непосредственно связано также со строением венозных сосудов. Внутричерепная венозная система представлена венозными резервуарами значительной емкости в виде синусов (пазух). Венозные синусы расположены в разных полостях черепа. Они защищены от сдавливания и собирают кровь из тонкостенных вен мозга и оболочек. Венозная кровь больших полушарий поступает в мелкие вены, которые впадают в более крупные, расположенные в глубине извилин или на поверхности мозга. Поверхностные вены головного мозга делятся на восходящие, средние и нисходящие. Вены лобные, вены центральных извилин и теменно-затылочной области относятся к восходящим. Средняя мозговая вена собирает кровь прилегающих участков лобной, теменной и височной долей, а нисходящие вены включают группу височно-затылочных вен. Нисходящие вены впадают в поперечный синус. Вены наружной поверхности и вены с медиальной поверхности больших полушарий впадают в верхний продольный синус и в основную вену. Между поверхностными венами головного мозга имеется большое количество анастомоз различного диаметра, соединяющих ветви одной и той же и ветви различных вен между собой. Очень крупные анастомозы не уступают по своим размерам крупным венам. Отток крови из средней мозговой вены происходит в поперечный синус, во внутреннюю и яремную вены. Основная масса венозной крови из подкорковых узлов, сосудов зрительного бугра, аммониева рога и серого вещества третьего желудочка мозга, мозолистого тела и средней поверхности мозжечка поступает в вены подкорковых образований, которые объединяются между собой большим количеством анастомоз. С верхней поверхности мозжечка кровь собирается в задний участок продольного синуса.

**Функция сосудистых механизмов.** Нормальная деятельность головного мозга теснейшим образом связана с постоянным и хорошо регулируемым кровообращением. Благодаря высокой чувствительности головного мозга к изменениям в кровообращении становится понятным, почему расстройства функций ЦНС, и особенно высшей нервной деятельности, в значительной степени зависят от нарушений кровообращения, т. е. сосудистой кровеносной системы. В настоящее время считается установленным, что кровообращение в головном мозгу может



заметно изменяться, причем изменение прежде всего связано с активной реакцией сосудов, чувствительных к различным воздействиям. В меньшей степени кровоснабжение мозга зависит от общего уровня артериального давления.

Установлено, что кровообращение в различных отделах головного мозга изменяется в больших пределах, хотя объем всего мозга заметно не меняется. Увеличение пульсового объема выравнивается повышением оттока крови из мозговых вен и переходом некоторого количества крови в вены позвоночного канала. Кроме того, особенность внутричерепного кровообращения проявляется в том, что существует связь между кровеносными сосудами мозга и цереброспинальной жидкостью, которая находится в полости черепа, в желудочках мозга и межоболочных пространствах. ЦСЖ вместе с кровеносными сосудами проникает с поверхности коры в глубь мозга по отросткам мягкой и паутинной мозговых оболочек. Во время прохождения пульсовой волны по кровеносным сосудам мозга происходит взаимоуравновешивание объемных изменений в артериях и венах. Следовательно, объем крови в головном мозгу остается постоянным, однако скорость кровотока в отдельных участках мозга может существенно изменяться. Последнее зависит от двух моментов — от разности между артериальным и венозным давлением в черепе и от сопротивления, оказываемого кровотоку сосудами мозга.

В настоящее время можно считать доказанным, что внутричерепные сосуды имеют специальную иннервацию. Одновременно важную роль выполняют нейро-гуморальные факторы. Таким образом, наличие специфических компенсаторных механизмов определяет пульсовой венозный отток из полости черепа, а также перемещение ЦСЖ из полости черепа в спинномозговую полость и обратно. В то же время объем крови по капиллярам мозга распределяется равномерно, что связано с наличием ликворной системы, т. е. цереброспинальной жидкости, благодаря которой изменения в артериях, минуя капилляры, передаются на венозную систему. Поскольку головной мозг заключен в герметически закрытую полость черепа и отделен от стенок черепной коробки цереброспинальной жидкостью, в которой он как бы взвешен, то пульсовые колебания в сосудистой системе влияют на него в гораздо меньшей степени, чем на другие органы.

## 2.2. РОЛЬ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ (ЦСЖ) И ГЕМАТО-ЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА (ГЭБ)

Объем ЦСЖ у взрослого человека достигает 100—150 мл. Из них примерно половина находится в церебральных пространствах (желудочках, сосудистых сплетениях и т. д.), остальная часть приходится на долю спинальных пространств



(позвоночного канала, сосудистых сплетений и т. д.). По мнению ряда авторов, ЦСЖ обновляется 5—10 раз в сутки, при этом суточное количество выделяемой сосудистыми сплетениями жидкости достигает 600 мл.

При самых разнообразных напряженных состояниях организма немедленно повышается артериальное и венозное давление, одновременно изменяется давление ЦСЖ и отток ее, что предохраняет мозговые сосуды от повышенного давления и возможности разрыва мелких сосудов. В этом отношении функция ЦСЖ важна, так как ее циркуляция в сильной степени зависит от мозгового кровообращения. Кроме гемодинамической функции, которую выполняет ЦСЖ, она еще является средой, поддерживающей и регулирующей осмотическое равновесие нервных клеток, и подобно лимфе, местом удаления продуктов обмена нервной ткани. ЦСЖ поддерживает также определенный уровень ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , и других катионов и анионов, необходимых для нормальной деятельности нервной системы.

Состав ЦСЖ существенно отличается от состава венозной крови, оттекающей от головного мозга. Эти различия обусловлены прежде всего тем, что гемато-энцефалический барьер для многих метаболитов непроницаем или проницаемость его крайне низка. Содержание белка в ЦСЖ в нормальных условиях примерно в 300 раз меньше, чем в плазме крови. Столь резкое различие наблюдается и в отношении липидов. Напротив, содержание глюкозы в ЦСЖ и крови примерно одинаково. Что же касается ряда катионов и анионов, которые необходимы для нормальной деятельности нервной системы, то их содержание примерно равно как в ЦСЖ, так и в плазме крови мозговой ткани (табл. 2).

Таблица 2

Содержание катионов и анионов в плазме и ЦСЖ, мкэкв/мл  
(Katzman, 1972)

Катионы	Плазма	ЦСЖ	Анионы	Плазма	ЦСЖ
$\text{Na}^+$	145,0	150,0	$\text{Cl}^-$	108,0	130,0
$\text{K}^+$	4,8	2,9	$\text{HCO}_3^-$	27,4	21,0
$\text{Ca}^{2+}$	5,2	2,3	$\text{PO}_4^{3-}$	1,8	0,5
$\text{Mg}^+$	1,7	2,3	Лактат	7,9	2,6
Итого	156,7	157,5	Итого	145,1	154,1

Цереброспинальная жидкость обладает бактерицидными свойствами, так как она является местом накопления агентов,



причем антитела накапливаются в ЦСЖ только при патологических процессах. И, наконец, многочисленными клиническими наблюдениями установлено, что при разнообразных психических заболеваниях наблюдаются значительные изменения в составе ЦСЖ. Поэтому изучение состава ЦСЖ при многих психических расстройствах имеет большое диагностическое значение. На основании имеющихся сведений о ЦСЖ можно предположить, что она выполняет исключительно важную полифункциональную роль, необходимую для нормальной деятельности нервной системы.

Мозговое кровообращение представляет также большой клинический интерес, так как оно играет исключительную роль в патологических состояниях головного мозга. Процент сосудистых заболеваний головного мозга велик (примерно 30% от всех нервных заболеваний). В свою очередь, тяжесть различных заболеваний центральной нервной системы (ЦНС) и травм головного мозга, а также и смертельный исход в значительной степени определяются нарушениями мозгового кровообращения. Так, по данным секционного материала Боткинской больницы в Москве, при различных заболеваниях ЦНС смертность от нарушения мозгового кровообращения достигала 81,5% (Мчедlishvili, 1968).\*

Таким образом, в системе кровоснабжения головного мозга существует особая, регулирующая система: кровь  $\rightleftharpoons$  ЦСЖ  $\rightleftharpoons$  мозг. В этой системе имеется два барьера, функционирующих в двух направлениях: один — между кровью и ЦСЖ, второй — между ЦСЖ и мозгом. Эти барьеры для белка, нуклеиновых кислот и других макромолекулярных соединений непроницаемы.

В настоящее время ГЭБ рассматривается как физиологическое понятие, т. е. под ГЭБ понимают не только морфологический барьер, но и совокупность ряда биофизических (диализ, осмос и т. д.) и разнообразных биохимических процессов. Кроме того, в понятие ГЭБ включают не только регуляторные, но и защитные функции. Как известно, характерной особенностью тканевых барьеров, включая и ГЭБ, является их избирательная функция как в отношении катионов и анионов, так и разнообразных метаболитов.

Гемато-энцефалический барьер особенно важен для транспорта аминокислот из кровеносного русла в нейроны всех отделов нервной системы, что было убедительно показано на опытах с мечеными аминокислотами, проводимых *in vivo* и *in vitro*. С помощью ГЭБ прежде всего обеспечивается определенный фонд свободных аминокислот в головном мозгу, по-

\* Если исходить из данных общей смертности людей, то оказывается, что смертность от нарушений мозгового кровообращения занимает 3-е или 4-е место, т. е. стоит на уровне легочных заболеваний, после смертности от сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных образований.



скольку свободные аминокислоты являются не только предшественниками в биосинтезе всех простых и сложных белков, разнообразных гормонов и других физиологически активных веществ, но и используются в значительных количествах как источники энергии. Так, даже при отсутствии и замедленном поступлении энергетических источников аминокислоты в течение некоторого времени могут поддерживать высокий энергетический уровень, необходимый для нормальной деятельности головного мозга. Содержание аминокислот в крови существенно отличается от содержания тех же аминокислот в головном мозгу. Например, количество глутамата в крови равно 0,05 мкмоль, в то же время в головном мозгу оно достигает 13,6 мкмоль, т. е. в мозгу его содержание в 250 раз выше, чем в крови. Количество аспартата в крови равно 0,01 мкмоль, а в головном мозгу — 2,24 мкмоль. Содержание аланина в крови достигает 0,40 мкмоль, а в мозгу только 0,9 мкмоль. Столь резкое различие в содержании отдельных аминокислот в крови и мозгу также поддерживается с помощью ГЭБ, хотя система кровь ↔ мозг между собой взаимосвязана.

Многочисленными исследованиями, особенно с использованием метода радиоактивной индикации, было установлено, что в зависимости от функциональной роли и метаболической активности того или иного отдела головного мозга активность ГЭБ в этих отделах может существенно отличаться. Это особенно наглядно проявляется в отношении кровоснабжения. Например, если через серое вещество больших полушарий протекает 1,25 мл/мин крови на 1 г вещества, то за это же время интенсивность кровоснабжения белого вещества больших полушарий достигает только 0,25 мл/мин/г вещества, т. е. в 5 раз медленнее, а в спинном мозгу она равна 0,14 мл/мин/г вещества, т. е. в 9 раз слабее, чем в сером веществе. Это подтверждается также и морфологическими данными. Показано, что наиболее интенсивное кровоснабжение происходит в тех отделах мозга, где имеет место наибольшая плотность капилляров; напротив, где слабо развита капиллярная сеть, там наблюдается наименьшая интенсивность кровоснабжения: серое вещество > белое вещество > спинной мозг.

Активность ГЭБ существенно изменяется при различных функциональных состояниях организма (возрастных, сезонных), а также при воздействии физических факторов и разнообразных фармакологических веществ, вызывающих торможение или стимуляцию тех или иных функций. Различные патологические состояния организма также отчетливо отражаются на активности ГЭБ.

Таким образом, для нормальной деятельности головного мозга и всей центральной нервной системы необходимо непрерывное и интенсивное кровоснабжение, которое обеспечивается наличием гемато-энцефалического барьера и других регулятор-



ных механизмов, а также особенностью строения артериальной и венозной систем мозгового кровообращения.

### 2.3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ И ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ ПО АРТЕРИО-ВЕНОЗНОЙ РАЗНИЦЕ

Этим вопросом занимались еще в начале прошлого столетия. Так, Геринг разработал метод определения скорости общего кровотока. Он вводил в яремную вену лошади железосинеродистый калий  $K_3Fe(CN)_6$ , через каждые пять секунд брал кровь из яремной вены другой стороны и следил за появлением следов светло-синей окраски, называемой берлинской лазурью. Эта окраска, по данным автора, обнаруживалась в другой яремной вене через 20—25 с. Таким образом, скорость общего кругооборота крови у лошади была определена равной 20—25 с.

В дальнейшем этот метод был неоднократно модифицирован, при этом использовались различные красители. Благодаря простоте и доступности он применялся для определения скорости кровотока в течение длительного времени. Однако он обладал существенным недостатком: многие использованные красители легко давали с белками, липидами и другими компонентами крови различные комплексы, что делало метод неточным и малочувствительным. Поэтому еще в конце прошлого века Стюартом был разработан электрометрический метод определения скорости кровотока, основанный на электропроводности крови. Автор вводил в яремную вену 1—2 мл 2,5%-ного раствора  $NaCl$  и наблюдал за отклонением стрелки в зеркальном гальванометре, который был соединен с другой яремной веной. Промежуток времени от начала инъекции раствора  $NaCl$  до отклонения стрелки в гальванометре являлся показателем скорости кровотока. Рядом авторов было установлено, что общий кругооборот крови у кролика равнялся в среднем 5,1 с, а у собаки — 10,9 с.

В 30-х и 40-х годах интенсивно разрабатывались методы определения скорости кровотока с использованием разнообразных усовершенствованных электрометрических приборов. С помощью микротермоэлектрического счетчика, например, удалось с большой точностью установить изменения скорости кровотока в норме и при различных функциональных состояниях, вызываемых химическими и физическими воздействиями. Для определения линейной скорости кровотока в головном мозгу использовали радиоактивный фосфор  $^{32}P$  в виде  $Na_2HPO_4$ , в отдельных случаях и другие изотопы. Поскольку  $^{32}P$  излучает  $\beta$ -лучи с максимальной энергией 1,7 МэВ, то появление изотопа в потоке крови можно обнаружить, прикладывая торцевой счетчик к стенке кровеносного сосуда. Вначале определяют фон, т. е. активность венозной крови до введения изотопа, затем берут



венозную кровь через определенные промежутки времени до того момента, когда активность крови станет фоновой. Активность крови можно регистрировать на пленке с помощью осциллографа: сначала записывают на пленку фоновую активность, а затем проводят регистрацию через определенные промежутки времени до того момента, когда активность крови станет фоновой. Для определения объемной скорости кровотока более пригодным оказался радиоактивный криптон ( $^{85}\text{Kr}$ ).

Первые данные об объемной скорости мозгового кровообращения были получены в 20-х годах нашего столетия. Под объемной скоростью кровотока понимают количество крови, протекающее за определенный промежуток времени, как правило, за 1 мин из расчета на 1 г мозга. Косвенным путем было определено, что через 1 г мозга собаки в 1 мин протекает 1,25 мл крови. В дальнейшем для определения объемной скорости кровотока был создан прибор, названный термочасами. Принцип работы его заключался в том, что с помощью термоэлементов и гальванометра определяли разность температур в двух точках кровеносного сосуда. Позднее этот метод был усовершенствован и использовался для определения скорости мозгового кровообращения. Оказалось, что у собаки через 1 г мозга в минуту протекает 0,75 мл крови, причем эта величина изменяется при действии различных веществ (нитроглицерина, гистамина, папаверина, никотина и др.).

Однако коренные изменения в определении объемной скорости мозгового кровоснабжения произошли в 40-х годах. Кети и Шмидт разработали метод, основанный на определении артерио-венозной (А—В) разницы содержания закиси азота (инертного газа). Людям и животным давали вдыхать газовую смесь, состоящую из 15%  $\text{N}_2\text{O}$ , 21%  $\text{O}_2$  и 64%  $\text{CO}_2$ , и определяли время с момента введения в кровь  $\text{N}_2\text{O}$  до установления одинакового содержания  $\text{N}_2\text{O}$  в артериальной и венозной крови.

Авторы установили, что количество крови, протекающей через 1 г мозга взрослого здорового человека, равно 0,52—0,54 мл/мин, а у юноши до 0,60 мл/мин; количество кислорода, потребляемого 1 г мозга в минуту, в среднем равно 0,033—0,035 мл. Как видно из табл. 3, скорость мозгового кровоснабжения существенно изменяется с возрастом человека. На обширном клиническом материале Кети и Шмидт получили данные об из-

Таблица 3

Изменение скорости мозгового кровотока и потребления  $\text{O}_2$  у людей разного возраста, мл/мин на 1 г мозга (Kety, Schmidt, 1945)

Возраст (годы)	Скорость кровотока	Потребление $\text{O}_2$
5	1,04	0,52
10	0,90	0,50
20	0,60	0,38
30	0,54	0,35
40	0,52	0,33
68	0,43	0,25
93	0,39	0,23



менении мозгового кровообращения у людей разного возраста (табл. 3) и при различных патологических состояниях и воздействиях (табл. 4).

Таблица 4

Изменение скорости мозгового кровообращения и потребления  $O_2$  у человека в норме и при ряде патологических состояний и воздействий, мл/мин на 1 г мозга (Kety, Schmidt, 1945)

Функциональное состояние организма	Скорость кровообращения	Потребление $O_2$
Норма (покой)	0,54	0,34
Атеросклероз	0,42	0,27
Анемия мозга	0,75	0,29
Гипертония	0,50	0,30
Гипергликемия, введение адреналина	0,61	0,42
Гипогликемия, введение инсулина	0,61	0,26
Гипервентиляция	0,34	0,37
Вдыхание $CO_2$ (5—6%)	0,93	0,33
Вдыхание $O_2$ (10%)	0,73	0,33
Вдыхание $O_2$ (85—90%)	0,42	0,32
Уремия	0,50	0,23

Метод Кети и Шмидта с использованием  $N_2O$  получил широкое распространение, так как он впервые дал возможность количественно определить кровоснабжение мозга. Этот метод используется и до настоящего времени для изучения общего мозгового кровоснабжения у человека.

В 50-х годах для определения объемного мозгового кровообращения начали применять радиоактивные изотопы. Наиболее перспективным оказалось использование инертных радиоактивных газов, например криптона с атомной массой 85. Метод радиоактивной индикации обладает тем преимуществом, что он является более простым и по точности не уступает методу Кети и Шмидта. Ниже представлены сравнительные данные скорости мозгового кровообращения и потребления  $O_2$  (мл/мин/г ткани), полученные с использованием  $N_2O$  и  $^{85}Kr$  (Kety, Schmidt, 1945):

$N_2O$ . . . . .	0,54	0,34
$^{85}Kr$ . . . . .	0,52	0,33

Как видно, результаты очень близки. Однако полученные результаты не дают ответа на вопрос — какие изменения происходят в тех или иных отделах мозга. С этой целью были приняты исследования по количественным изменениям кровоснабжения в различных отделах головного мозга как в норме, так и при разнообразных функциональных состояниях. С по-



мощью прибора, в котором имелась специальная игла, содержащая электромикротермопару, измеряли температуру ( $t^\circ$ ) коры мозга, ЦСЖ желудочков и обнаружили, что  $t^\circ$  мозговой ткани выше температуры тела от сотых долей до двух градусов. Показано, что повышение температуры мозга является выражением усиленного метаболизма в нем. В последнее время используются весьма чувствительные термисторы разной формы и малых размеров, применение которых открывает широкие возможности для определения температуры и скорости кровотока в различных отделах мозга. Используя термисторы, удалось установить, что температура в центральных (глубинных) частях мозга на  $1^\circ\text{C}$  выше, чем в крови, а в коре на  $1,2^\circ\text{C}$  ниже.

Для измерения скорости кровотока использовали также электромагнитный токометр, который вводили в сонную артерию. Эти исследования далеки до завершения, однако они представляют интерес, так как изменения температуры в различных отделах мозга как на поверхности, так и в глубинных частях свидетельствуют о существенных изменениях, происходящих в мозгу.

#### 2.4. ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА В ГОЛОВНОМ МОЗГУ ЦЕЛОСТНОГО ОРГАНИЗМА И В СРЕЗАХ МОЗГА

Одним из важнейших условий поддержания высокого уровня метаболизма в интактном головном мозгу является постоянное и интенсивное кровоснабжение мозга. Был сделан ряд попыток изучения метаболизма мозга по изменению А—В разницы тех или иных метаболитов. Разработанный Е. С. Лондоном в конце 30-х годов метод синусостомии позволяет проводить исследования на целостном живом организме, в котором сохранены нормальные анатомические и физиологические межорганные связи. Данный метод, являясь модификацией метода ангиостомии, открывает доступ к мозговому венозному синусу через трепанационное отверстие в черепе, сделанное в области верхнего продольного мозгового синуса. В этот синус поступает кровь из верхних вен мозга, преимущественно из сосудов коры больших полушарий, а также из некоторых вен твердой мозговой оболочки и черепных костей. Операция синусостомии не представляет большой сложности. При постановке опыта на синусостомированных собаках одновременно производится взятие крови, притекающей к мозгу (артериальной) и оттекающей от него и собирающейся в верхнем продольном мозговом синусе. Что же касается артериальной крови, то, как уже указывалось, состав ее одинаков на всем протяжении артериального кровяного русла, т. е. она может быть взята из любого артериального сосуда, чаще всего из бедренной артерии. Для взятия крови из мозгового синуса иглу вводят в центр трепанационного отверстия.



Синусостомированные собаки могут быть использованы в опытах на протяжении 1—2 лет. Следовательно, на одном и том же животном можно производить многократные опыты, что делает полученные данные особенно ценными. В процессе опыта кровь из мозгового синуса может быть взята несколько раз, что позволяет изучить динамику метаболизма головного мозга во времени. Хорошо проведенная операция делает ничтожной болевую чувствительность при уколе в область мозгового синуса, о чем свидетельствует незначительное изменение содержания глюкозы в артериальной крови после укола.

Таким образом, метод синусостомии позволил изучать многократно интенсивность газового и углеводного обмена по потреблению  $O_2$  и глюкозы и выделению  $CO_2$  в головном мозгу при различных функциональных состояниях, причем на одном и том же животном в течение длительного времени (1—2 года).

Для определения артерио-венозной разницы (А—В)  $O_2$  и  $CO_2$ , а также глюкозы и других метаболитов необходимо определять их содержание в артериальной и венозной крови. Для сравнения полученных данных целесообразно исследуемые вещества выражать в мкмоль на 1 г ткани или на 1 мл крови. Полученные величины А—В разницы характеризуют интенсивность обмена исследуемых метаболитов в мозгу.

Особенно плодотворным оказалось применение метода синусостомии для изучения углеводного и газового балансового обмена мозга, так как об интенсивности и метаболизме в головном мозгу можно прежде всего судить по потреблению  $O_2$  и глюкозы и выделению  $CO_2$ . Этим же методом была доказана роль глюкозы как энергетического источника головного мозга, а также показана интенсивность использования ее при различных функциональных состояниях центральной нервной системы: возбуждении, наркозе, гипоксии и т. д. В результате этих исследований было впервые установлено, что мозг потребляет глюкозу крови в значительно большем количестве, чем другие органы, причем это количество зависит от функционального состояния головного мозга и организма в целом.

Таблица 5

Потребление глюкозы, кислорода и выделение углекислоты головным мозгом собаки в норме (Прохорова, 1954)

Исследуемый компонент	А—В-разница		на 1 г мозга/мин		мкмоль/г/мин
	мг	мл	мг	мл	
Глюкоза	+10	—	0,054	—	0,30
Кислород	—	+6,8	—	0,367	1,64
Углекислота	—	—6,4	—	0,346	1,54



В табл. 5 приведены данные по потреблению глюкозы и выделению  $\text{CO}_2$  (из расчета в 1 мл крови, протекающей через 1 г мозга собаки в минуту, в среднем содержится 0,30 мкмоль глюкозы). Как известно, при полном окислении молекулы глюкозы образуется 6 молекул  $\text{CO}_2$ . Следовательно, при полном окислении 0,30 мкмоль глюкозы в головном мозгу должно образоваться 1,8 мкмоль  $\text{CO}_2$ ; нами обнаружено 1,54 мкмоль  $\text{CO}_2$ , т. е. 86% потребленной глюкозы в мозгу окисляется до углекислоты. Полученные данные хорошо согласуются с количеством потребленного кислорода, которое, по нашим данным, равно 1,64 мкмоль. (При полном окислении глюкозы до  $\text{CO}_2$  необходимо 1,80 мкмоль  $\text{O}_2$ .) Эти показатели позволяют определить дыхательный коэффициент (ДК) в головном мозгу, который, как оказалось, близок к единице:

$$\text{ДК} = \frac{1,54 \text{ мкмоль } \text{CO}_2}{1,64 \text{ мкмоль } \text{O}_2} = 0,94.$$

Таким образом, на основании данных А—В разницы потребления  $\text{O}_2$  и выделения  $\text{CO}_2$  можно судить об интенсивности аэробных процессов в головном мозгу. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что в нормальных условиях глюкоза, поступающая в головной мозг, окисляется преимущественно аэробным путем.

Аналогичные исследования были проведены Химвичем, Мак-Ильвейном и другими с той только разницей, что оттекающую кровь от мозга брали из внутренней яремной вены. Вывод был один и тот же: в головном мозгу происходят интенсивные аэробные процессы.

Опыты *in vivo*, проведенные в экспериментальных условиях (Лондон, Химвич, Мак-Ильвейн и др.) и в клинике (Кети, Шмидт, Соколов и др.), позволили установить, что обменные процессы в головном мозгу происходят интенсивно. Рядом авторов было также показано, что количество  $\text{O}_2$ , потребляемого головным мозгом, составляет от 18 до 25% ко всему кислороду, который расходуется целым организмом. В то же время кровь, протекающая через мозг, составляет примерно 15% от крови, циркулирующей в целом организме. Если учесть, что головной мозг человека составляет в среднем 2% от веса тела, то оказывается, что мозг потребляет  $\text{O}_2$  в 9—12,5 раз больше, чем органы и ткани всего организма, а кровь протекает в 7,5 раза интенсивнее, чем в среднем в целом организме. Все это свидетельствует об интенсивном метаболизме в головном мозгу.

Таким образом, возникла новая область биохимии — функциональная нейрехимия, которая в настоящее время интенсивно разрабатывается и значение и актуальность которой с каждым годом все возрастают.

Одновременно проводились исследования с целью выяснения, в какой мере изменяется метаболизм в мозгу при различ-



ных функциональных состояниях организма. Из табл. 6 видно, что при возбуждении происходят повышенные окислительные процессы (А—В разница потребления глюкозы и кислорода и выделения  $\text{CO}_2$  выше, чем в норме), а при наркозе и гипоксии эти процессы заметно снижены.

Таблица 6

Потребление глюкозы,  $\text{O}_2$  и выделение  $\text{CO}_2$  при различных функциональных состояниях собаки на основании данных А—В-разницы исследуемых компонентов, мкмоль/г мозга/мин (Прохорова, 1954)

Исследуемый компонент	Норма	Возбуждение	Наркоз	Гипоксия
Глюкоза	0,30	0,45	0,15	0,12
Кислород	1,64	1,80	1,20	1,06
Углекислота	1,54	1,60	1,10	0,80
ДК	0,94	0,88	0,91	0,80

Указанные зависимости настолько постоянны, что по увеличению или уменьшению потребления глюкозы и кислорода можно судить о функциональных изменениях в головном мозгу. Это дает основание считать, что интенсивность энергетического обмена теснейшим образом связана с функциональным состоянием головного мозга.

Наряду с исследованием целого мозга представляет, несомненно, большой интерес интенсивность потребления кислорода отдельно серым и белым веществом. Для интактного организма были вычислены интенсивности потребления кислорода отдельно в сером и белом веществе головного мозга. Кроме того, были проведены опыты отдельно на срезах серого и белого вещества больших полушарий без раздражения и при раздражении электрическим током (табл. 7).

Таблица 7

Интенсивность потребления кислорода головным мозгом человека в опытах *in vivo* и в препаратах мозга человека, мкмоль/г/мин (Мак-Ильвейн, 1962)

Метод исследования	Исследуемое вещество	Скорость потребления $\text{O}_2$
Определена по А—В-разнице и скорости кровотока	Целый мозг	1,5
Вычислена	Серое вещество	2,0
Вычислена	Белое вещество	1,0
Срезы: глюкозо-фосфатный солевой раствор (без раздражения)	Серое вещество	0,90
	Белое вещество	0,42
Срезы: глюкозо-фосфатный солевой раствор (раздражение электрическим током)	Серое вещество	1,83
	Белое вещество	0,66



Характерно, что как в целом интактном мозгу так и на срезах серое вещество мозга без раздражения потребляет кислорода в два раза больше, чем белое вещество, что свидетельствует о более высоком уровне метаболических процессов, происходящих в коре больших полушарий по сравнению с белым веществом. Как указывалось выше, это подтверждается также значительно более интенсивным кровоснабжением и наличием большей плотности капилляров в сером веществе, чем в белом.

В последующие годы было проведено много исследований, посвященных количественному потреблению глюкозы и кислорода головным мозгом, причем эти исследования проводились не только на животных, но и на человеке в клинических условиях, а также в опытах на срезах, гомогенатах. Так, например, Кребс, проводя опыты на срезах мозговой ткани животных, установил, что 1 г мозга в минуту потребляет в среднем 0,033 мл кислорода (1,47 мкмоль  $O_2$  мин/г мозга). Аналогичные данные о потреблении кислорода головным мозгом в интактном целостном организме были получены нами на синусостомированных животных в норме и при различных функциональных состояниях (см. табл. 5 и 6). Кроме того, в многочисленных исследованиях на клиническом материале Кети, Шмидт и другие авторы наблюдали, что через 1 г мозга в минуту протекает в среднем 0,54 мл крови, при этом потребление кислорода из расчета на 1 г в минуту в среднем равно 0,034 мл, что составляет 1,51 мкмоль  $O_2$  мин/г мозга.

Как видно, полученные данные об интенсивности потребления глюкозы и  $O_2$  и выделения  $CO_2$  оказались близкими как в опытах *in vivo*, так и *in vitro*. Это свидетельствует о достоверности полученных результатов, поскольку они установлены не только различными методами, но и исследования проводились на целом организме и на срезах мозга. При этом следует отметить, что такое совпадение результатов возможно только при определении балансовых реакций. Известно, что как в интактном головном мозгу, так и на срезах мозга конечным продуктом аэробного окисления глюкозы является  $CO_2$ . Поэтому интенсивность окисления глюкозы, а следовательно, и потенциальные возможности энергетического обмена были установлены, причем с большой достоверностью как в опытах на интактном мозгу, так и на срезах. На основании их с достаточной точностью и достоверностью можно рассчитать количество молекул АТФ (макроэргического вещества), образующихся в мозговой ткани:

$$X = \frac{6,02 \cdot 10^{23} \cdot 0,30 \cdot 90 \cdot 50 \cdot 36}{100 \cdot 100 \cdot 10^6} = 2,9 \text{ мкмоль АТФ/мин/г,}$$

здесь  $6,02 \cdot 10^{23}$  — число Авогадро; 0,30 — количество мкмоль глюкозы, которое потребляется 1 г мозга в минуту; 90 — процент аэробного окисления глюкозы в мозгу; 50 — процент энер-



гии, аккумулированной в виде АТФ; 36 — число молей АТФ, образовавшихся при окислении 1 моля глюкозы;  $10^6$  — переводной коэффициент в мкмольях.

Как видно из представленного расчета, в 1 г мозга в минуту образуется в среднем  $2,9 \cdot 10^{18}$  молекул АТФ. При этом возможны колебания (чаще — в сторону уменьшения и значительно реже — в сторону увеличения) в пределах  $1,0 \cdot 10^{18}$  —  $4,0 \cdot 10^{18}$  молекул АТФ (0,6 — 2,4 мкмольей АТФ из расчета на 1 г мозга в минуту). Столь малые колебания можно объяснить наличием сложных и разнообразных регуляторных механизмов в мозговой ткани, благодаря которым в мозгу имеют место жесткие условия, проявляющиеся в незначительном изменении рН, относительно постоянных концентрациях метаболитов, небольших колебаниях кровоснабжения и потребления глюкозы, кислорода, выделения  $\text{CO}_2$  и т. д. Все это в значительной степени ограничивает пределы изменения скоростей биохимических реакций в головном мозгу целостного организма.

Следовательно, приведенная количественная характеристика энергетического обмена головного мозга представляет огромный интерес, так как углубленное изучение биохимических процессов, обеспечивающих важнейшие функции нервной системы, а именно: активный транспорт ионов и метаболитов, формирование кратковременной и долговременной памяти, непрерывное образование синаптических структур, а также состояние динамизма в нервной ткани, позволило показать, что все они идут с затратой значительных количеств энергии (АТФ и т. д.). Поэтому энергетический обмен в головном мозгу является одним из актуальных направлений современной функциональной нейрохимии.

Краткие сведения об углеводах головного мозга см. в Приложении.

В  
ном  
углуб  
цессь  
ткани  
мость  
форм  
биоф  
ной  
непре  
нов,  
др.,  
Хоро  
лород  
лител  
тивно  
прин  
энерг  
лимит

Ис  
низме  
вают,  
карбо  
энерг  
отлич  
но пр  
го и



## Глава 3

### ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН ГОЛОВНОГО МОЗГА

В последние годы изучение энергетического обмена в головном мозгу привлекает особое внимание исследователей. При углубленном изучении деятельности мозга выяснено, что процессы, лежащие в основе таких специфических для нервной ткани явлений, как проведение нервных импульсов, возбудимость, способность к хранению и переработке поступающей информации (память), а также многочисленные биохимические и биофизические процессы, связанные с поддержанием своеобразной пространственно-функциональной архитектоники мозга, с непрерывным образованием функциональных ансамблей нейронов, с обновлением и образованием синаптических структур и др., протекают со значительными энергетическими затратами. Хорошо известна тесная связь между поглощением мозгом кислорода и окисляемых субстратов, а также интенсивностью окислительных процессов, с одной стороны, и функциональной активностью мозга, с другой. Все это позволило сформулировать принципиально важное предположение о том, что интенсивность энергетического обмена является одним из ведущих факторов, лимитирующих функциональную активность нервной ткани.

#### 3.1. ПОТРЕБЛЕНИЕ ГОЛОВНЫМ МОЗГОМ КИСЛОРОДА И ГЛЮКОЗЫ

Исследования, проведенные на различных уровнях — организменном, тканевом, субклеточном, молекулярном, — показывают, что последовательность реакций гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, процессов аккумуляции и трансформации энергии в головном мозгу универсальная, т. е. существенно не отличается от таковых в любой другой ткани. Поэтому логично предположение о том, что основу специфичности углеводного и энергетического метаболизма нервной ткани следует ис-



катель в особенностях механизмов регуляции и в характерных для данной ткани соотношениях активностей ферментов, катализирующих превращения субстратов, которые находятся в точках перекреста нескольких метаболических путей. Однако необходимо подчеркнуть, что решение этих вопросов осложняется гетерогенностью клеточных популяций в головном мозгу, а также отсутствием прямых методов для исследования регуляторных механизмов, действующих в условиях целостного организма. Трудность заключается еще и в том, что большинство работ по изучению кинетики и регуляторных свойств ферментов выполнено *in vitro* на препаратах печени, сердца, мышечной ткани, но не из головного мозга. Поэтому, обсуждая механизмы, контролирующие энергетический обмен в нервной ткани, невольно приходится пользоваться косвенными данными. Все эти обстоятельства позволяют понять, почему в литературе имеются лишь единичные работы, посвященные регуляции метаболизма мозга *in vivo*.

### Особенности дыхания различных структур мозга

Одним из важнейших показателей, характеризующих интенсивность энергетического обмена, служит скорость дыхания. Эксперименты по определению величин артерио-венозной разницы по кислороду, выполненные на мозге интактных животных (см. гл. 2), убедительно доказывают, что по интенсивности окислительных процессов головной мозг занимает особое место среди других крупных органов и тканей. Как уже отмечалось, мозг, составляющий не более 2% от веса тела, потребляет до 20—25% всего количества кислорода, поступающего в организм. Больше того, у новорожденных животных и людей на дыхание головного мозга может расходоваться до 50% от общего количества кислорода, потребляемого организмом. Высокая скорость поглощения кислорода, заметно отличающая мозговую ткань от других, может быть продемонстрирована не только в опытах *in vivo*, но и на различных тканевых препаратах — срезах, томогенатах, митохондриях.

Сопоставление дыхания отделов мозга разных животных (обезьян, собак, морских свинок, крыс, кроликов, кур и др.) показывает общую закономерность: снижение интенсивности дыхания по мере перехода от филогенетически более молодых передних отделов мозга к филогенетически более старым задним отделам. По скорости поглощения кислорода отделы мозга можно расположить в такой убывающей последовательности: кора больших полушарий, где у всех исследованных видов животных найдена максимальная интенсивность дыхания > мозжечок и промежуточный мозг > средний и продолговатый мозг. Минимальная скорость потребления кислорода наблюдается в ткани спинного мозга. Периферические нервы ис-



пользуют лишь около 3% того количества кислорода, которое потребляется эквивалентным по весу количеством ткани из центральных отделов нервной системы.

В литературе имеются противоречивые данные о сравнительной интенсивности дыхания двух важнейших типов клеток нервной системы — нейрональных и нейроглиальных. Большинство исследователей приводит результаты экспериментов, свидетельствующие о значительно более интенсивных окислительных процессах (с разницей в 5 и более раз) в нейронах по сравнению с нейроглиальными клетками. Кроме того, для нейрональных клеток характерна и более четко выраженная стимуляция эндогенного дыхания препаратов при добавлении различных субстратов (глутамата, кетоглутарата и др.).

Следует отметить, что сопоставление интенсивности дыхания нейрональных и нейроглиальных клеток сопряжено с определенными методическими трудностями, поскольку в настоящее время отсутствуют надежные и хорошо воспроизводимые методы получения интактных клеток мозга. Используемые большинством авторов для этой цели методы микроиссечения или дифференциального центрифугирования в градиенте плотности са-

Таблица 8

Сравнение интенсивности дыхания нейрональных и нейроглиальных клеток, выделенных с помощью различных методических приемов (Herz, Schousboe, 1975)

Клетки	Метод выделения	Поглощение $O_2$ в расчете на	
		1 клетку, (мкл/ч) $\times 10^{-5}$	1 г сырого веса, мкмоль/ч
Нейроны коры больших полушарий			
кошки (Epstein, O'Connor, 1965)	Микроиссечение	101	1080
" (Hertz, 1966)		50	263
крысы (Rose, 1967)	Центрифугирование в градиенте плотности	3	79
" (Hemminki, Holmilla, 1971)	"	0,15	95
Нейроны спинального ганглия цыпленка	Микроиссечение	4	1000
Нейроны коры больших полушарий цыпленка	Культура ткани	0,66	567
Глиальные клетки коры больших полушарий крысы	Микроиссечение	0,5—1,0	40—80
"	Центрифугирование в градиенте плотности	0,04—0,11	40—70
Астроциты коры больших полушарий крысы	Культура ткани	0,75	130



харозы или фиккола дают возможность получить либо частично поврежденные клетки, либо фракции, в большей или меньшей степени загрязненные миелином и другими примесями. Наглядное представление об этом можно получить из данных табл. 8, в которой приведены результаты определения дыхания нейрональных и нейроглиальных клеток, выделенных разными способами.

Оценивая интенсивность дыхания различных структур мозга, нельзя не коснуться изменений, связанных с развитием и дифференцировкой головного мозга. Поглощение мозгом кислорода, определенное по артерио-венозной разнице, заметно увеличивается в начальный период постэмбрионального развития животного. Изменения этого балансового показателя коррелируют с заметным возрастанием числа основных субклеточных структур, ответственных за окислительные и энергетические процессы в клетке, т. е. митохондрий. Показано, что в головном мозгу растущих животных происходят интенсивные процессы митохондриогенеза и увеличение числа этих субклеточных частиц в расчете на клетку. Например, по данным Грегсона и Вильямса, среднее число митохондрий в расчете на нейрон коры больших полушарий крыс составляет 776 у новорожденных и 1480 у взрослых животных. В этих расчетах для уточнения числа клеток учитывалось изменение количества ДНК в растущем мозгу.

С возрастом меняется не только общее количество митохондрий, но и локализация их в нервных клетках: больше митохондрий сосредоточивается в областях синаптических окончаний. Анализ ультраструктуры митохондрий с помощью электронного микроскопа показал, что в зрелом мозгу присутствует большее число относительно небольших по размеру, но более длинных митохондрий, чем в мозгу новорожденных животных. Появление таких субклеточных частиц приурочено к развитию дендритных сплетений. Эти изменения, по-видимому, являются структурной основой для интенсификации окислительных и энергетических процессов в ходе дифференцировки и окончательного созревания головного мозга.

### Потребление головным мозгом глюкозы

Наряду с высокой скоростью дыхания для головного мозга характерно интенсивное потребление глюкозы крови. Как показали эксперименты на интактных животных (см. подробнее в гл. 2), ни один орган не поглощает глюкозу крови с такой скоростью и в таких количествах, как мозг, и ни для какой другой ткани организма не отмечено такой острой потребности в этом субстрате окисления для поддержания нормального функционального состояния. До 70% глюкозы, образующейся в печени и выделяющейся из нее в кровь, потребляется головным



мозгом. Величина дыхательного коэффициента в мозгу, определенная на основании артерио-венозной разницы по кислороду и углекислому газу, близка к единице. Например, по расчетам Мак-Ильвейна, она составляет  $0,99 \pm 0,03$ . Это говорит о том, что преимущественным путем метаболизма глюкозы в головном мозгу является ее окисление в реакциях аэробного гликолиза, сопряженных с реакциями цикла трикарбоновых кислот.

Расчеты, проведенные на основании экспериментов с радиоактивными изотопами, показывают, что около 85—90% глюкозы, потребляемой головным мозгом взрослого животного, полностью окисляется до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ ; около 5% расходуется в реакциях гликолиза с образованием молочной кислоты и лишь 5—7% используется в других реакциях (синтез гликогена, синтез церамидной части специфических гликолипидов мозга и др.). В некоторых случаях, например в экспериментах на мелких лабораторных животных (белые крысы, мыши) с использованием введенной интрацистернально глюкозы— $^{14}\text{C}$ , показана возможность полного 100%-ного окисления этого субстрата до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Как указывалось, в норме глюкоза является одним из основных субстратов окисления во многих органах, а не только в мозгу. Однако головной мозг резко отличается от всех других крупных органов своей необычайной зависимостью от снабжения глюкозой. При уменьшении уровня этого соединения в притекающей крови печень, почки, скелетные и сердечная мышцы для поддержания энергетического баланса и сохранения функциональной активности способны окислять целый ряд других субстратов (аминокислоты, лактат, жирные кислоты, кетоновые тела и др.). Головной же мозг в этих условиях продолжает по-прежнему потреблять высокие количества глюкозы и кислорода. И лишь при снижении концентрации сахара в крови ниже критических величин (тяжелая гипогликемия) значительно падает потребление мозговой тканью как глюкозы, так и кислорода, и развивается коматозное состояние с потерей сознания. Эти наблюдения указывают на весьма ограниченную способность головного мозга компенсировать уменьшение поступления глюкозы за счет окисления других энергетических субстратов.

Хорошей иллюстрацией резкого различия между мозговой и мышечной тканями в потреблении глюкозы служат результаты экспериментов на собаках, у которых введением инсулина вызывали гипогликемию разной тяжести (табл. 9). Из этих данных видно, что тяжелая гипогликемия вызывает в скелетных мышцах уменьшение потребления глюкозы в 4,5 раза, но интенсивность окислительных процессов, о которой говорит поглощение кислорода, снижается лишь на 15%. Иными словами, в мышечной ткани в указанных условиях легко происходит замещение глюкозы на другие субстраты окисления без значи-



Таблица 9

Потребление глюкозы и кислорода головным мозгом и скелетной мышцей собаки в условиях инсулиновой гипогликемии (Мак-Ильвейн, 1962)

Условия эксперимента	Концентрация глюкозы в крови, мг %	Артерио-венозная разница	
		по глюкозе, мг/100 мл крови	по кислороду, мл/100 мл крови
Головной мозг			
Контроль (норма)	90	13,1	9,3
Умеренная гипогликемия	30	12,5	8,0
Тяжелая гипогликемия	12	3,0	3,8
Скелетная мышца			
Контроль (норма)	90	7,6	6,9
Тяжелая гипогликемия	20	1,7	6,0

тельного изменения энергетического баланса и функциональной активности ткани. Напротив, в головном мозгу уменьшение скорости поступления глюкозы при тяжелой гипогликемии в 4,5 раза коррелирует со значительным (в 2,5 раза) торможением дыхания, приводя к резкому нарушению функциональной активности мозга и развитию гипогликемической комы.

Следует отметить, что попытки компенсировать развитие гипогликемической комы и поддержать энергетический баланс головного мозга введением животным даже в весьма значительных количествах различных метаболитов глюкозы (гексозофосфатов, лактата, пирувата, фруктозы, галактозы и др.) были неудачными. При инсулиновой гипогликемической коме лишь внутривенные инъекции глюкозы могут нормализовать энергетический метаболизм мозга и вывести животное из коматозного состояния.

Убедительным подтверждением необычайной зависимости функциональной активности головного мозга от постоянного притока кислорода и глюкозы, т. е. от интенсивности энергетического обмена, является четкая согласованность между скоростью дыхания и потреблением глюкозы при изменении функционального состояния. М. И. Прохоровой и сотр. в экспериментах на собаках установлено, что возбуждение (введение кофеина) синхронно стимулирует потребление головным мозгом животного и глюкозы, и кислорода. Напротив, при наркозе оба эти показателя энергетического обмена параллельно снижались. Еще более резкое торможение окислительных и энергетических процессов в мозгу обнаружено при гипоксии, что хорошо объясняет высокую чувствительность головного мозга к недостатку кислорода.

В настоящее время установлено, что потребность мозга в кислороде и глюкозе заметно изменяется в ходе онтогенеза,



значительно повышаясь по мере его роста, дифференцировки и формирования отдельных структурно-функциональных ансамблей нейронов. В ходе развития головного мозга скорость окисления глюкозы в нем возрастает, и одновременно увеличивается зависимость функциональной активности нейронов от интенсивности окислительных процессов как источника энергии.

### Гликоген как возможный энергетический источник в головном мозгу

Сопоставление данных по содержанию глюкозы в мозгу разных животных (в среднем 1—4 мкмоль/г) и скорости ее потребления показывает, сколь незначительны собственные ресурсы этого метаболита в мозгу, и объясняет отмеченную выше зависимость функциональной активности головного мозга от поступления углеводов с кровью. Даже при условии полного использования глюкозы только для окисления, ее запасы могут быть полностью исчерпаны за 3—6 мин. Возникает вопрос, в какой мере уровень глюкозы в мозгу может поддерживаться за счет гликогена.

Содержание гликогена в мозгу разных животных составляет в среднем 2,5—4,5 мкмоль/г ткани (в расчете на глюкозу). Интересно отметить, что общее содержание полисахарида в мозгу эмбрионов и новорожденных животных значительно выше, чем в мозгу взрослых. Например, у новорожденных мышей в отличие от взрослых животных уровень гликогена в 3 раза выше. По мере роста и дифференцировки мозга, а также по мере повышения зависимости функционального состояния мозга от скорости дыхания, концентрация гликогена быстро снижается и остается относительно постоянной у взрослого животного. Ряд авторов связывают эти изменения с быстрой активацией фосфоорилазной системы в первые дни постнатального развития и с возрастанием ее чувствительности к различным регуляторным воздействиям, в частности к гормональной регуляции.

Убедительным доказательством участия гликогена в качестве субстрата в энергетическом обмене служат опыты с перфузией головного мозга. В экспериментах Гайтонда, выполненных на кошках, к перфузионной жидкости добавляли 1-6<sup>14</sup>C-глюкозу. Анализ углекислого газа в оттекающей от мозга крови показал быстрое разбавление <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>, образующегося из радиоактивной глюкозы, нерадиоактивной углекислотой, источником которой служил окисляющийся гликоген мозга. Расчеты показывают, что 7—10% энергетических потребностей головного мозга могут покрываться за счет расщепления гликогена.

Активное участие гликогена в метаболических превращениях и изменение интенсивности его обмена при различных функциональных состояниях животного удалось показать с помощью метода радиоактивной индикации (табл. 10). Высокая интен-



Изменение УА и ОУА гликогена и УА глюкозы мозга при различных функциональных состояниях организма (Прохорова, Тупикова, 1957)

Состояние животного	УА, имп/мин/мг		ОУА
	глюкоза	гликоген	
Норма	1581	712	45
Возбуждение	990	332	34
Наркоз	2268	452	20
Гипоксия	1289	185	15

сивность обновления гликогена мозга служит, следовательно, основой для поддержания динамического равновесия в системе глюкоза — гликоген как в нормальных физиологических условиях, так и при экстремальных состояниях, когда уменьшается поступление в мозг глюкозы крови. Необходимо иметь в виду, однако, что из-за небольших размеров пула гликогена в мозгу расщепление его до глюкозы с последующим окислением может произойти в течение 5—7 мин.

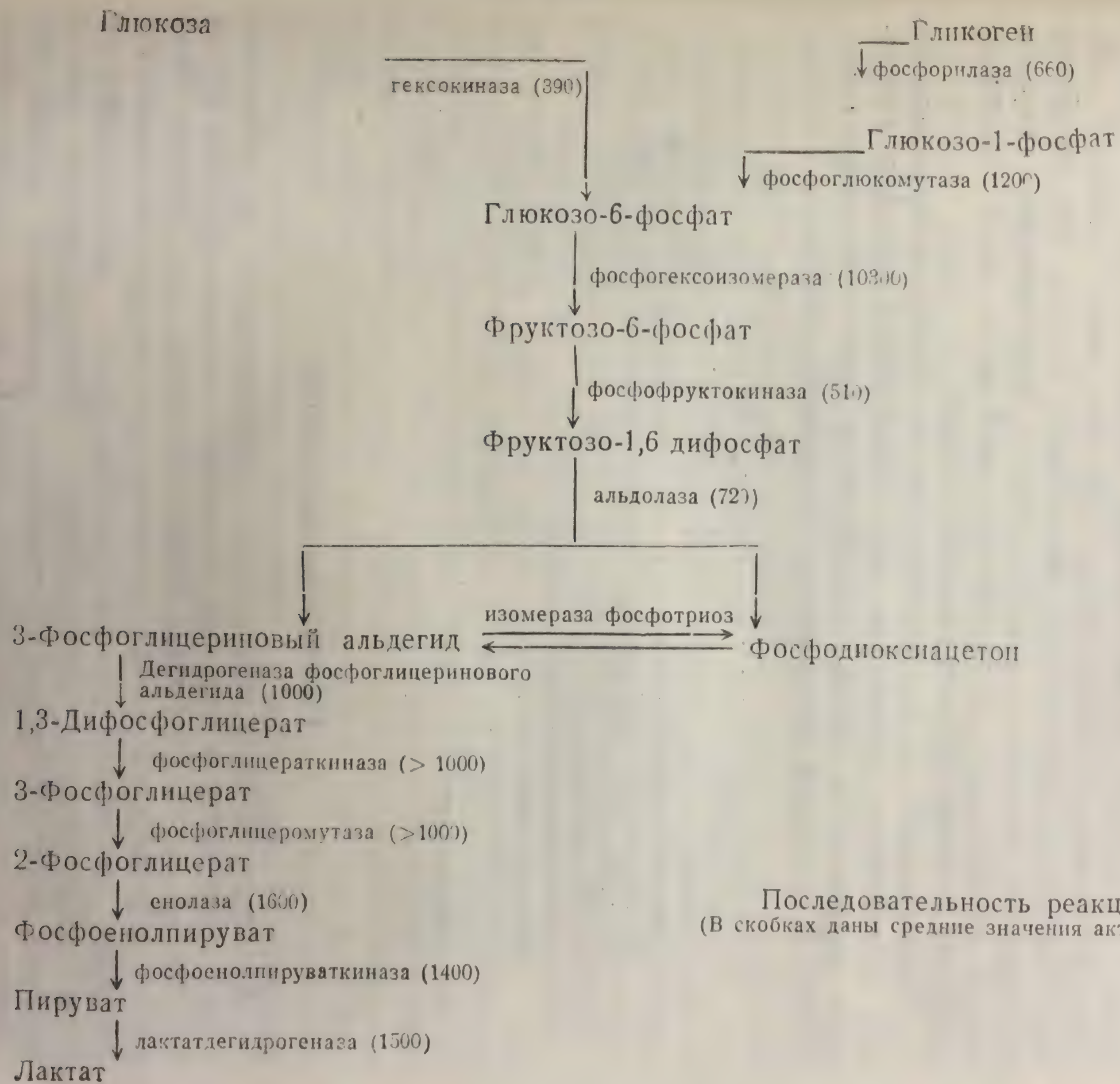
Таким образом, собственные углеводные запасы в нервной ткани относительно невелики и не могут обеспечить энергетические потребности нормально функционирующего головного мозга в течение длительного времени. Это обстоятельство наряду с отмеченной выше ограниченной способностью мозга использовать другие субстраты окисления лежит в основе характерной для нервной ткани зависимости от постоянного поступления глюкозы из крови.

Для того чтобы понять, каким образом в головном мозгу обеспечивается высокий уровень энергетического обмена, почему глюкоза используется почти полностью именно в реакциях окисления и в покрытии энергетических потребностей тканей, а не в других метаболических процессах, необходимо более детально рассмотреть вопросы регуляции скоростей основных путей окисления — гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Этим вопросам посвящены следующие разделы.

### 3.2. ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ РЕАКЦИЙ ОКИСЛЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ

Лишь в последние годы в литературе начинают появляться сведения, дающие возможность установить некоторые черты специфичности регуляторных механизмов, которые контролируют реакции гликолиза и других метаболических путей в функционально различных органах и тканях в условиях интактного организма. Особое внимание исследователей сосредоточено на изучении соотношения активностей и механизмов контроля над





Последовательность реакций гликолиза.  
(В скобках даны средние значения активности ферментов.)



теми ферментами, которые конкурируют за использование субстратов, стоящих в точках перекреста нескольких метаболических путей. Однако имеющиеся в настоящее время экспериментальные данные касаются в основном регуляции метаболизма в печени, сердечной и скелетной мышцах и в других органах. Работы по выяснению специфичности энергетического и окислительного обмена и их контроля в головном мозгу интактного животного остаются единичными. Многие аспекты этой важной и необычайно сложной проблемы требуют дальнейших углубленных исследований.

На с. 39 приведены последовательность реакций гликолиза, а также средние значения активностей ферментов, катализирующих отдельные стадии в мозгу крыс (активность ферментов в мкмольх субстрата/час в расчете на 1 г ткани). Из сопоставления активностей ферментов видно, что наиболее медленными стадиями, которые могут лимитировать скорость потока метаболитов по гликолитической цепи, являются гексокиназная и фосфофруктокиназная реакции.

Представление о количественном соотношении промежуточных компонентов гликолиза дают следующие средние результаты определения уровня метаболитов (мкмоль/г сырого веса ткани) в головном мозгу крыс (Bergmeyer, 1970):

Гликоген . . . . .	1,9 — 3,8
УДФ-глюкоза . . . . .	0,08 — 0,17
Глюкоза . . . . .	1,52 — 3,70
Глюкозо-6-фосфат . . . . .	0,039 — 0,049
Фруктозо-6-фосфат . . . . .	0,017 — 0,023
Фруктозо-1,6-дифосфат . . . . .	0,010 — 0,017
Фосфодиацетон . . . . .	0,024
2-Фосфоглицериновый альдегид . . . . .	0,021 — 0,046
3-Фосфоглицерат . . . . .	0,085 — 0,100
2-Фосфоглицерат . . . . .	0,010 — 0,016
Фосфоенолпируват . . . . .	0,035 — 0,097
Пируват . . . . .	0,120 — 0,190
Лактат . . . . .	1,26 — 1,70

### Гексокиназная реакция

Для регуляции углеводного и энергетического метаболизма в головном мозгу в отличие от печени, скелетных мышц и других тканей особое значение имеет гексокиназная реакция. Важность ее в нервной ткани состоит в том, что подавляющее количество (до 90—95%) глюкозо-6-фосфата, вовлекаемого в цепь гликолитических превращений, образуется именно за счет реакций фосфорилирования свободной D-глюкозы, которая поступает в мозг из притекающей крови. В других тканях источником значительной части глюкозо-6-фосфата служит расщепление гликогена с последующим превращением глюкозо-1-фосфата в фосфоглюкомутазной реакции.



ельного обмена и их контроля в головном мозгу интактно  
отного остаются единичными. Многие аспекты этой важ  
и необычайно сложной проблемы требуют дальнейших у  
ленных исследований.

На с. 39 приведены последовательность реакций гликолиза  
а также средние значения активностей ферментов, катали  
ющих отдельные стадии в мозгу крыс (активность ферме  
в мкмоль/час в расчете на 1 г ткани). Из  
оставления активностей ферментов видно, что наибол  
ленными стадиями, которые могут лимитировать скорос  
ока метаболитов по гликолитической цепи, являются гекс  
азная и фосфофруктокиназная реакции.

Представление о количественном соотношении промежуто  
к компонентов гликолиза дают следующие средние резул  
ты определения уровня метаболитов (мкмоль/г сырого вес  
ни) в головном мозгу крыс (Bergmeyer, 1970):

Гликоген . . . . .	1,9 — 3,8
УДФ-глюкоза . . . . .	0,08 — 0,17
Глюкоза . . . . .	1,52 — 3,70
Глюкозо-6-фосфат . . . . .	0,039 — 0,049
Фруктозо-6-фосфат . . . . .	0,017 — 0,023
Фруктозо-1,6-дифосфат . . . . .	0,010 — 0,017
Фосфодиоксиацетон . . . . .	0,024
2-Фосфоглицериновый альдегид . . . . .	0,021 — 0,046
3-Фосфоглицерат . . . . .	0,085 — 0,100
2-Фосфоглицерат . . . . .	0,010 — 0,016
Фосфоенолпируват . . . . .	0,035 — 0,097
Пируват . . . . .	0,120 — 0,190
Лактат . . . . .	1,26 — 1,70

### Гексокиназная реакция

Для регуляции углеводного и энергетического метаболизм  
оловном мозгу в отличие от печени, скелетных мышц и дру  
тканей особое значение имеет гексокиназная реакция. Важ  
ть ее в нервной ткани состоит в том, что подавляющее ко  
ество (до 90—95%) глюкозо-6-фосфатного



Кроме того, гексокиназная реакция является доминирующим путем пополнения пула метаболитов гликолиза в мозгу, поскольку глюкоза представляет собой основной энергетический субстрат в этой ткани. Окисление иных энергетических субстратов и ввод компонентов в гликолитическую цепь через другие реакции (фосфотриозы и др.) в нервной ткани не имеет существенного значения. Все эти соображения позволяют рассматривать гексокиназную реакцию как первый пункт контроля над скоростью энергетического обмена в головном мозгу.

Активность гексокиназы (АТФ : *D*-гексоза-6-фосфотрансфераза, 2.7.1.1) в головном мозгу относительно невелика, в среднем она составляет 350—450 мкмоль субстрата/г/ч. Однако при сравнении активности фермента в 14 различных тканях (мозг, печень, почки, легкие, сердечная и скелетные мышцы, надпочечники и др.) Лонг обнаружил наиболее высокие значения в головном мозгу; эти данные подтверждены и другими исследователями. Например, активность гексокиназы в сердечной мышце равна в среднем 210 мкмоль субстрата/г/ч, в скелетных мышцах — 115, в почках и селезенке — 120—130, в легких — 60, в печени — 25—30 мкмоль субстрата/г/ч.

Интересная особенность гексокиназы мозга отмечена при изучении распределения фермента между компартментами клетки. В отличие от ряда других тканей в мозгу до 70—80% активности гексокиназы сосредоточено не в цитоплазме, а на внешней мембране митохондрий. Причины этого пока не совсем ясны, но можно предположить, что такая локализация фермента обеспечивает наиболее быстрое и эффективное фосфорилирование глюкозы за счет АТФ, синтезированной в митохондриях.

В экспериментах на препаратах гексокиназы, изолированной как из мозга, так и из других органов, установлено, что фермент ингибируется продуктом реакции — глюкозо-6-фосфатом. Для того чтобы оценить роль такого механизма регуляции в условиях *in vivo*, необходимо сопоставить величины константы ингибирования фермента и реально существующие концентрации глюкозо-6-фосфата в головном мозгу. Прямые анализы показывают, что содержание этого метаболита в мозгу невелико. Например, как указывалось выше, в коре больших полушарий крыс оно составляет 0,04—0,05 мкмоль/г ткани. Допуская, что более 95% глюкозо-6-фосфата сосредоточено в цитоплазме, можно рассчитать примерную концентрацию метаболита в этом компартменте; она находится в пределах  $(6,0—6,6) \cdot 10^{-5}$  М. По данным ряда исследователей, величина константы ингибирования  $K_i$  цитоплазматической гексокиназы составляет  $(3,0—4,0) \cdot 10^{-6}$  М, а митохондриального фермента  $(8,0—9,5) \cdot 10^{-5}$  М.

Митохондриальная гексокиназа способна претерпевать обратимые превращения: сольюбилизацию (переход в цитоплазму) и обратное связывание с частицами в зависимости от концентрации адениновых нуклеотидов. Накопление аденозинтрифосфа-



та и возрастание отношения АТФ/АДФ приводит к усилению сольюбилизации гексокиназы. Поскольку величина  $K_i$  цитоплазматической формы фермента на порядок ниже концентрации глюкозо-6-фосфата в данном компартменте, это вызовет замедление скорости фосфорилирования глюкозы и, следовательно, торможение гликолиза. Напротив, при уменьшении уровня АТФ происходит новое связывание фермента с ионами магния в митохондриальной мембране, которое вследствие указанной разницы величины  $K_i$  ведет к освобождению фермента от ингибирования глюкозо-6-фосфатом и повышению скорости фосфорилирования субстрата.

Изменения сольюбилизации гексокиназы происходят при концентрациях нуклеотидов, находящихся в «физиологических» пределах. Это обстоятельство позволило Фромму и другим авторам считать возможным существование описанного механизма регуляции активности гексокиназы в головном мозгу *in vivo*.

Расчеты, проведенные Лоури и соавторами, показывают, что в мозгу интактных нормальных животных гексокиназа находится преимущественно в ингибированном состоянии. Увеличение доли митохондриального фермента даже на несколько процентов приводит к значительному возрастанию скорости фосфорилирования глюкозы (из-за разности величин  $K_i$ ). Следовательно, такой механизм регуляции обеспечивает значительный «запас мощности» фермента, позволяя быстро увеличивать скорость фосфорилирования глюкозы при изменении энергетического баланса в мозговой ткани без ускорения синтеза ферментативного белка. Иными словами, гексокиназная реакция, вовлекающая основной энергетический субстрат в метаболические превращения, в нервной ткани протекает со скоростью, соответствующей оптимальной для данного физиологического состояния интенсивности аэробного гликолиза. Такое предположение согласуется с результатами экспериментов по определению стационарных концентраций всех промежуточных продуктов гликолиза в головном мозгу животных при ряде воздействий с последующим выявлением на графиках («метаболических профилях») точек перекреста, т. е. лимитирующих участков, где происходит замедление потока метаболитов. Установлено, что при многих воздействиях, даже экстремального характера, замедления на гексокиназном участке гликолитической цепи не наблюдается.

#### Соотношение путей метаболизма глюкозо-6-фосфата в мозгу

Образующийся в гексокиназной реакции глюкозо-6-фосфат является соединением, находящимся на пересечении нескольких метаболических путей (рис. 1). Использование субстрата в той или иной последовательности реакций (гликолиз, пентозофос-



фатный путь, глюконеогенез и др.) определяется соотношением активностей ферментов, конкурирующих за глюкозо-6-фосфат. В табл. 11 приведены данные об интенсивности отдельных путей метаболизма глюкозо-6-фосфата, рассчитанные на основании опытов с использованием  $^{14}\text{C}$ -глюкозы и анализа активно-

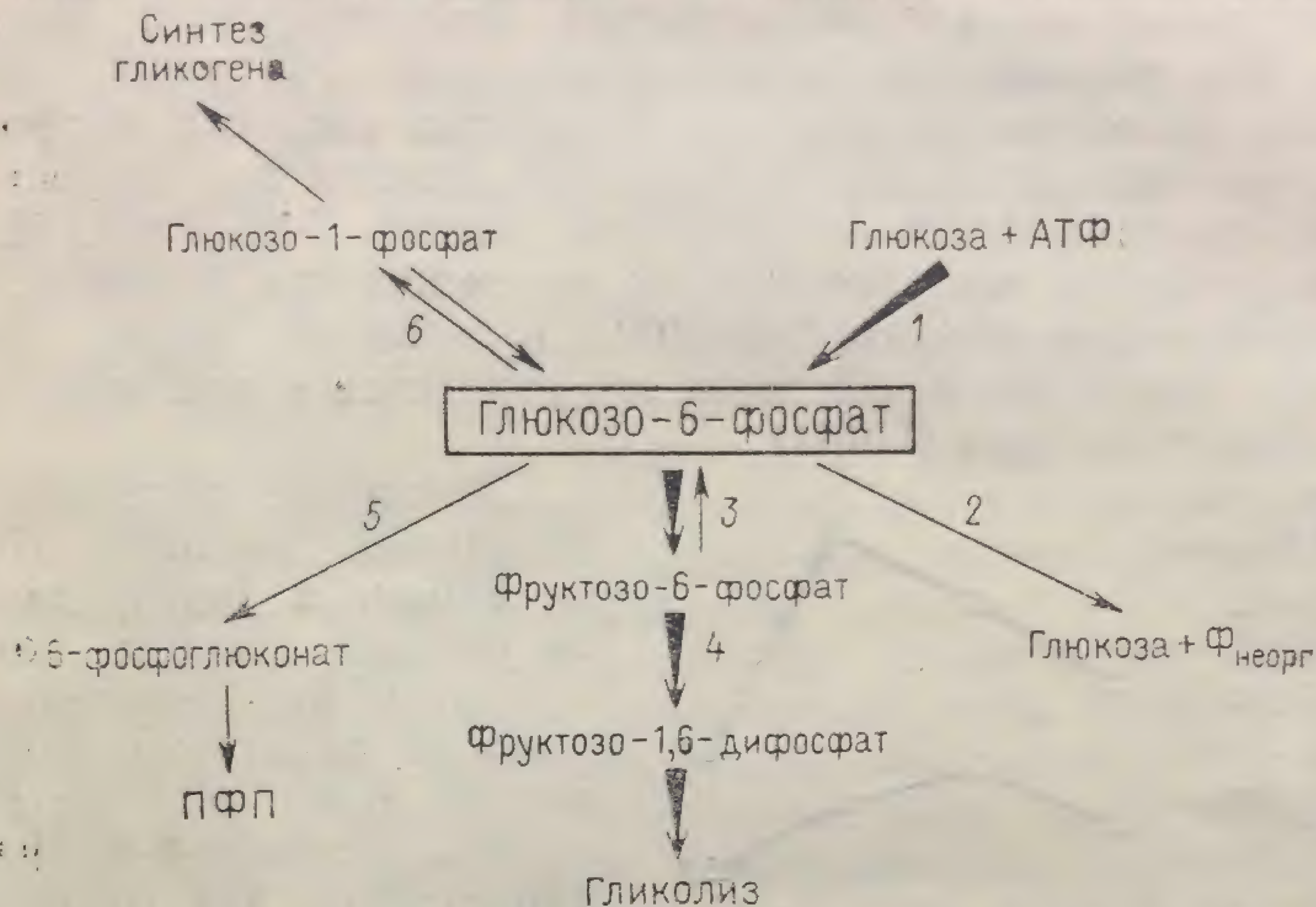


Рис. 1. Основные пути метаболизма глюкозо-6-фосфата. Жирными стрелками обозначены доминирующие пути образования и утилизации глюкозо-6-фосфата в головном мозгу

1 — гексокиназа; 2 — глюкозо-6-фосфатаза; 3 — фосфогексоизомераза; 4 — фосфофруктокиназа; 5 — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; 6 — фосфоглюкомутаза.

стей ферментов. Несмотря на то, что эти расчеты являются приблизительными и данные разных исследователей об интенсивности путей метаболизма глюкозо-6-фосфата довольно разнородны, они все же дают наглядное представление о значительных отличиях в метаболизме глюкозо-6-фосфата в голов-

Таблица 11

Интенсивность отдельных путей метаболизма глюкозо-6-фосфата в головном мозгу и печени крыс (Раппопорт, 1965 и др.)

Метаболический путь	Доля глюкозо-6-фосфата, вовлекаемого в реакции, %	
	Головной мозг	Печень
1. Окисление до $\text{CO}_2$ и $\text{H}_2\text{O}$ в ходе аэробного гликолиза и ЦТК	80—90	около 20
2. Синтез гликогена	5—7	20—25
3. Расщепление в глюкозо-6-фосфатазной реакции до свободной глюкозы	Следы	до 50
4. Пентозофосфатный путь	2—3	5—15
5. Другие реакции	Менее 5	5—10



тний путь, глюконеогенез и др.) определяется соотношении  
 тивностей ферментов, конкурирующих за глюкозо-6-фосф  
 табл. 11 приведены данные об интенсивности отдельных  
 метаболизма глюкозо-6-фосфата, рассчитанные на основ  
 опытов с использованием  $^{14}\text{C}$ -глюкозы и анализа актив

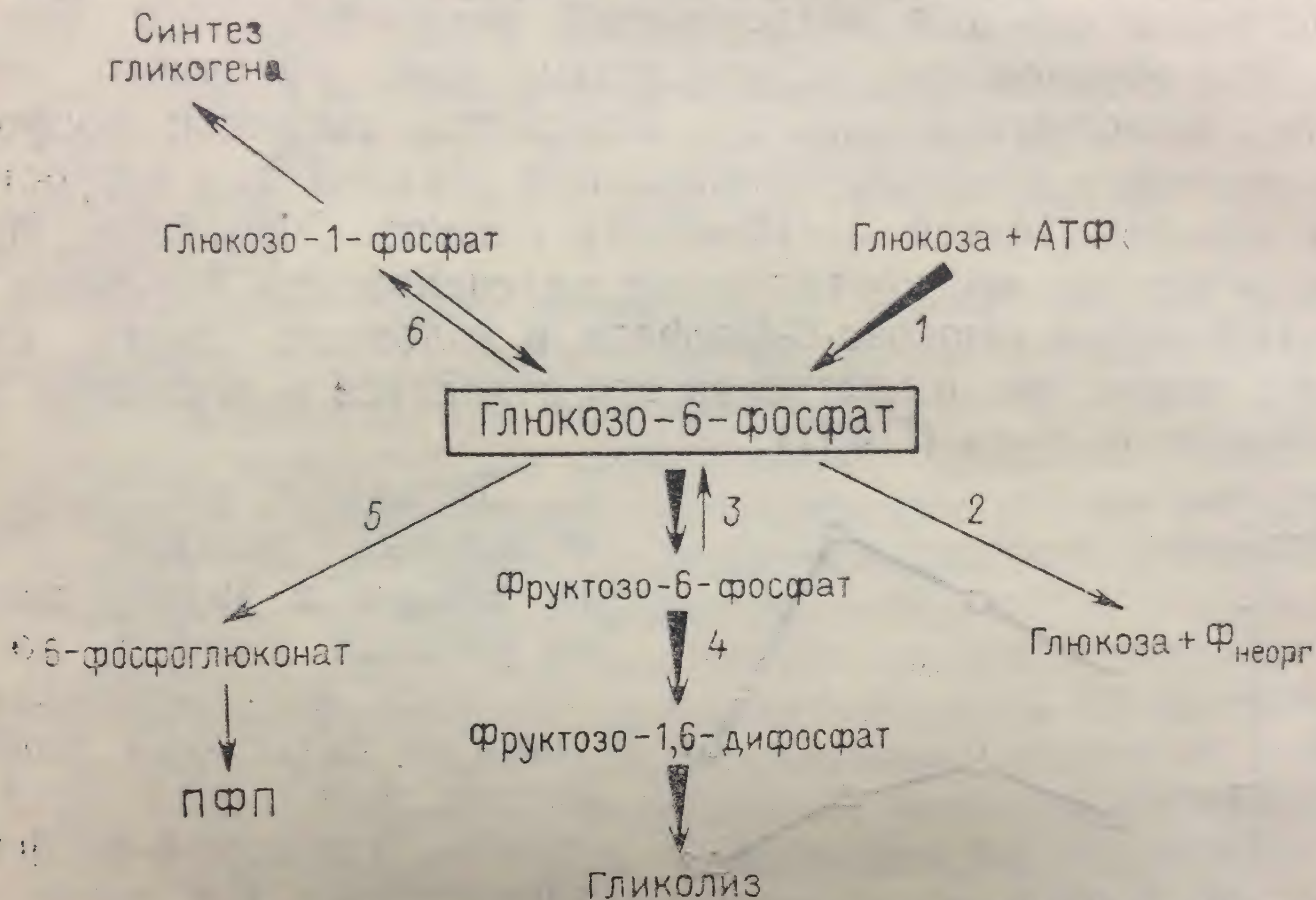


Рис. 1. Основные пути метаболизма глюкозо-6-фосфата. Жир-  
 ными стрелками обозначены доминирующие пути образования  
 и утилизации глюкозо-6-фосфата в головном мозгу

1 — гексокиназа; 2 — глюкозо-6-фосфатаза; 3 — фосфогексоизоме-  
 раза; 4 — фосфофруктокиназа; 5 — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа;  
 6 — фосфоглюкомутаза.

стей ферментов. Несмотря на то, что эти расчеты являются  
 приближительными и данные разных исследователей об интен-  
 сивности путей метаболизма глюкозо-6-фосфата довольно раз-  
 нородны, они все же дают наглядное представление о значи-  
 тельных отличиях в метаболизме глюкозо-6-фосфата в голов-

Таблица 1

Интенсивность отдельных путей метаболизма глюкозо-6-фосфата  
 в головном мозгу и печени крыс (Раппопорт, 1965 и др.)



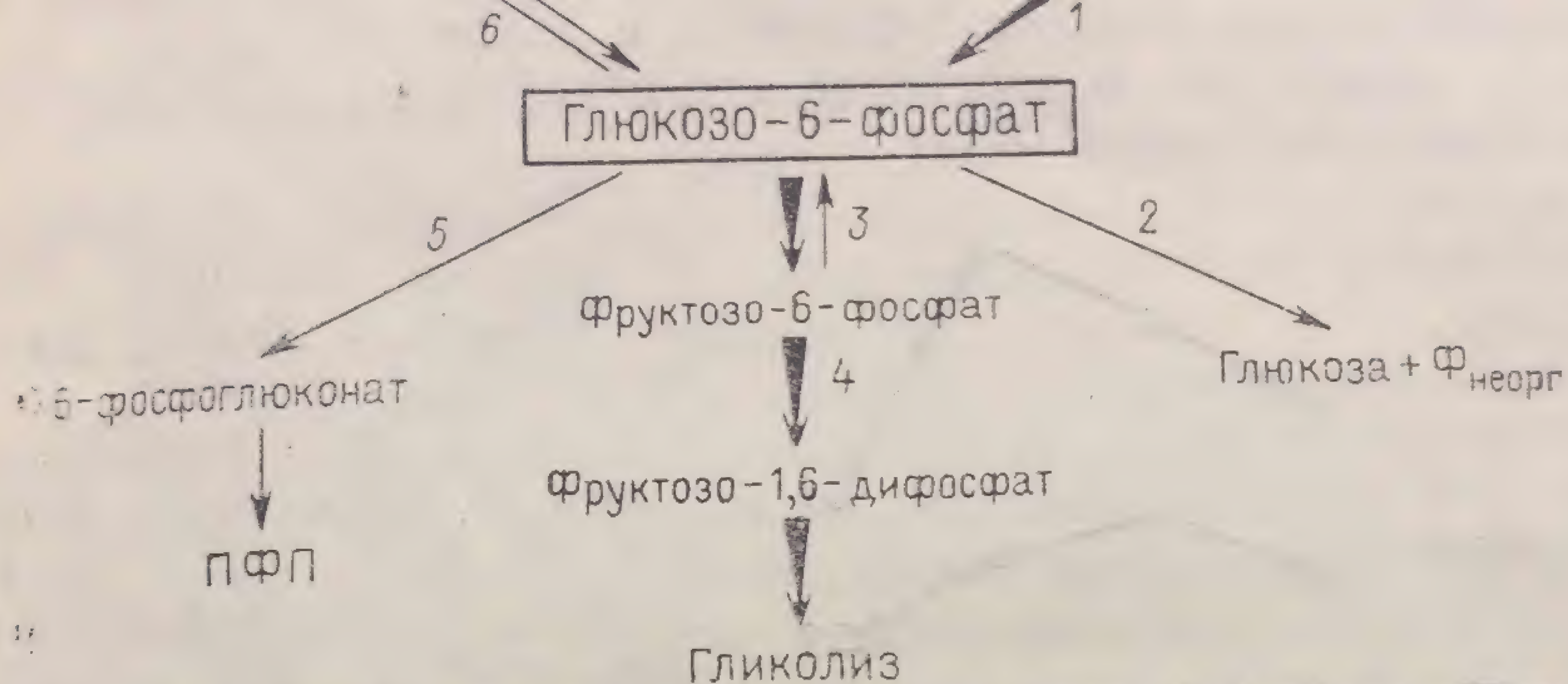


Рис. 1. Основные пути метаболизма глюкозо-6-фосфата. Жирными стрелками обозначены доминирующие пути образования и утилизации глюкозо-6-фосфата в головном мозгу

1 — гексокиназа; 2 — глюкозо-6-фосфатаза; 3 — фосфогексоизомераза; 4 — фосфофруктокиназа; 5 — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; 6 — фосфоглюкомутаза.

стей ферментов. Несмотря на то, что эти расчеты являются приблизительными и данные разных исследователей об интенсивности путей метаболизма глюкозо-6-фосфата довольно разнородны, они все же дают наглядное представление о значительных отличиях в метаболизме глюкозо-6-фосфата в голов-

Таблица 11

Интенсивность отдельных путей метаболизма глюкозо-6-фосфата в головном мозгу и печени крыс (Раппопорт, 1965 и др.)

Метаболический путь	Доля глюкозо-6-фосфата, вовлекаемого в реакции, %	
	Головной мозг	Печень
1. Окисление до $\text{CO}_2$ и $\text{H}_2\text{O}$ в ходе аэробного гликолиза и ЦТК	80—90	около 20
2. Синтез гликогена	5—7	20—25
3. Расщепление в глюкозо-6-фосфатазной реакции до свободной глюкозы	Следы	до 50
4. Пентозофосфатный путь	2—3	5—15
5. Другие реакции	Менее 5	5—10



ном мозгу и печени. Из данных, представленных в табл. 11, видно, что доминирующим путем превращения глюкозо-6-фосфата в клетках нервной системы является вовлечение его в реакцию гликолиза с последующим окислением в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК) до углекислого газа и воды, т. е. использование его для поддержания энергетического баланса ткани. Это обусловлено характерным для головного мозга взрослых животных резким преобладанием скорости фосфогексоизомеразной и фосфофруктокиназной реакций над скоростями других основных путей метаболизма глюкозо-6-фосфата. Необходимо отметить, что соотношение интенсивности основных путей метаболизма глюкозо-6-фосфата в головном мозгу изменяется с возрастом, в частности это относится к реакциям пентозофосфатного пути (ПФП).

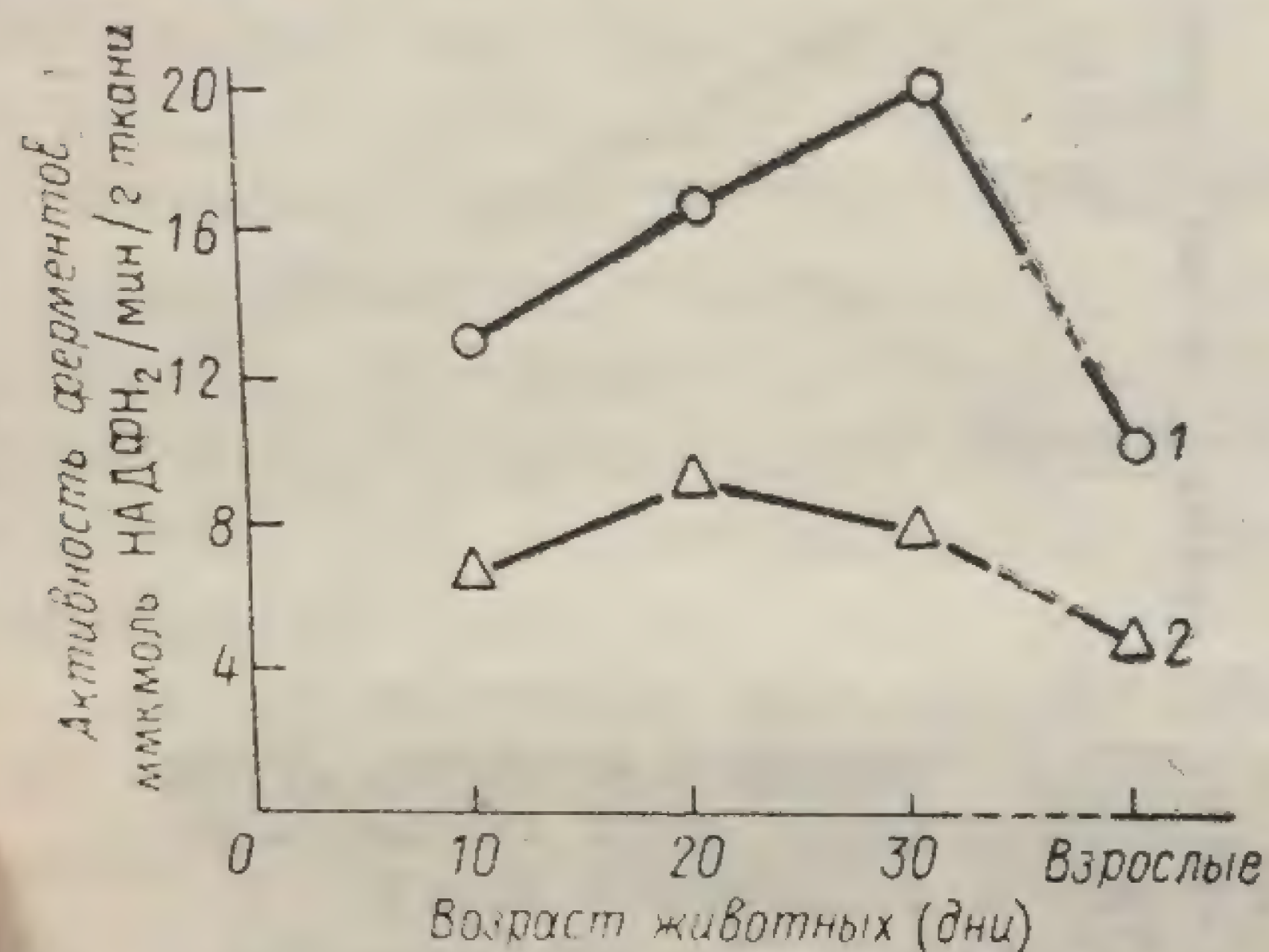


Рис. 2. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (1) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (2) в головном мозгу крыс разного возраста (Путилина, Зондзе, 1977).

дни: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (*D*-глюкозо-6-фосфат: НАДФ-оксидоредуктаза, 1.1.1.49) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-фосфо-*D*-глюконат: НАДФ-оксидоредуктаза декарбоксилирующая, 1.1.1.44). Установлено, что активности этих ферментов в головном мозгу молодых животных в 1,5—2 раза выше, чем у взрослых. Максимальные величины активностей отмечаются исследователями в период наиболее интенсивной миелинизации; у крыс этот период соответствует 20—30 дням постнатального развития (рис. 2). Эксперименты с радиоактивными предшественниками позволили рассчитать, что в мозгу молодых животных в ПФП может окисляться до 10% глюкозо-6-фосфата, в то время как у взрослых — лишь 2—3% (см. табл. 11).

### Фосфофруктокиназная реакция

Как уже упоминалось, основная масса глюкозо-6-фосфата в головном мозгу используется в реакциях гликолиза. Важным

Детальное рассмотрение отдельных реакций ПФП не входит в задачу данного раздела пособия, поэтому здесь мы остановимся лишь на некоторых особенностях этого пути метаболизма глюкозо-6-фосфата, характерных для головного мозга. Как известно, интенсивность использования глюкозо-6-фосфата в реакциях ПФП в значительной степени определяется активностями ферментов, катализирующих начальные, наиболее медленные ста-



этапом гликолитической цепи с точки зрения возможности контроля над скоростью гликолиза является фосфофруктокиназная реакция. Активность фосфофруктокиназы (АТФ: D-фруктозо-6-фосфат-1-фосфотрансфераза, 2.7.1.11) в головном мозгу и многих других тканях заметно ниже активностей остальных ферментов гликолиза (см. с. 39), в силу чего данная реакция может лимитировать общую скорость потока метаболитов по гликолитической цепи. Именно этим объясняется интерес многих исследователей к изучению свойств и механизмов регуляции этого фермента.

В отличие от гексокиназы запас каталитической мощности фосфофруктокиназы относительно невелик, увеличение активности этого фермента под действием кинетических регуляторных механизмов происходит в ограниченных пределах. Поэтому при ряде экстремальных воздействий скорость потока метаболитов по гликолитической цепи ограничивается именно реакцией фосфорилирования фруктозо-6-фосфата.

В головном мозгу, как и в других тканях, в регуляции скорости фосфорилирования фруктозо-6-фосфата принимают участие одновременно несколько механизмов, однако их относительная роль в том или ином органе различна. Фосфофруктокиназа представляет собой поливалентный аллостерический фермент, активность которого подавляется АТФ и цитратом и стимулируется АДФ. Действие этих основных регуляторных факторов дополняется другими. В частности, АМФ и неорганический фосфат снимают ингибирующее действие АТФ; аналогичным образом влияет продукт реакции фруктозодифосфат.

Возрастание величины отношения АТФ/АДФ приводит к снижению активности фосфофруктокиназы, а уменьшение доли АТФ в пуле адениновых нуклеотидов, напротив, увеличивает скорость фосфорилирования фруктозо-6-фосфата. Этот механизм, по-видимому, является ведущим в системе множественного контроля над активностью фосфофруктокиназы в головном мозгу. Обращает на себя внимание, что отношение АТФ/АДФ одновременно с фосфофруктокиназой контролирует и активность другого важного фермента гликолиза — гексокиназы, причем направленность изменений (стимуляция или ингибирование) одинакова для обеих киназ. Такая совместная регуляция дала возможность Лоури и соавторам рассматривать гексокиназу и фосфофруктокиназу как единый функциональный комплекс; двойной контроль над активностью важнейших энзимов гликолиза со стороны компонентов энергетического обмена является характерной особенностью головного мозга. Наличие синхронной регуляции активности двух ведущих ферментов гликолитической цепи одним и тем же фактором позволяет быстро и эффективно изменять скорость окисления глюкозы в клетках головного мозга в зависимости от изменений энергетического баланса.



Второй механизм контроля над активностью фосфофруктокиназы, а именно ингибирование фермента цитратом, в головном мозгу играет, по всей вероятности, значительно меньшую роль, чем в других тканях. Это может быть обусловлено особенностями метаболизма лимонной кислоты в мозгу. Как известно, основным источником цитрата в мозгу служит ацетил-КоА, образующийся при окислительном декарбоксилировании пирувата. В то же время в других тканях, например в печени, значительные количества ацетил-КоА для синтеза цитрата образуются при окислении жирных кислот, т. е. имеет место конкуренция между гликолизом и липолизом. Кроме того, в головном мозгу взрослых животных лимонная кислота быстро окисляется в том же компартменте, в котором синтезируется — в митохондриях, в силу чего концентрация этого метаболита в цитоплазме обычно не достигает величин, близких к  $K_i$  фосфофруктокиназы. Например, в головном мозгу белых крыс расчетные концентрации цитрата составляют  $(3-5) \cdot 10^{-5}$  М, величина  $K_i$  —  $(1-3) \cdot 10^{-4}$  М. В печени ингибирование фосфофруктокиназы цитратом играет большую роль и служит одним из надежных механизмов переключения от преимущественного окисления углеводов к окислению жирных кислот и наоборот.

#### « Конечные этапы гликолиза в головном мозгу

Реакции, следующие за образованием фруктозо-1,6-дифосфата, в головном мозгу катализируются ферментами, активность которых достаточно высока (см. с. 39). Поэтому ни скорость расщепления фруктозо-1,6-дифосфата, ни последующие этапы превращений фосфотриоз обычно не лимитируют общую скорость гликолиза в мозговой ткани.

В отличие от многих органов с интенсивным липолизом или интенсивно протекающим пентозофосфатным путем, в мозгу взрослых животных дополнительный поток в пул метаболитов гликолиза трехуглеродных фрагментов (фосфоглицеринового альдегида, фосфодиоксиацетона, глицерофосфатов и др.) имеет весьма ограниченное значение. Результаты экспериментов с различными  $^{14}\text{C}$ -предшественниками показывают, что в мозгу на долю промежуточных компонентов гликолиза, образовавшихся из  $^{14}\text{C}$ -глицерата, приходится не более 2—5%. Это обстоятельство еще раз показывает важность для метаболизма головного мозга гексокиназной реакции, которая служит основным путем ввода углеродных компонентов в гликолитическую цепь.

Конечным продуктом аэробного гликолиза является пировиноградная кислота. Она стоит на пересечении нескольких метаболических путей, и дальнейшая судьба этого компонента определяется соотношением активностей конкурирующих за нее ферментов. Основные реакции обмена пировиноградной кисло-



ты приведены на рис. 3. Рассматривая их, необходимо учитывать, что цитоплазматическая пировиноградная кислота легко проникает через митохондриальные мембраны и включается в метаболические превращения в обоих клеточных компартментах. Пируватдегидрогеназная и пируваткарбоксилазная реакции сосредоточены исключительно в митохондриях. Образование пирувата из аминокислот (треонина, глицина, серина, цистина и цистеина) идет в цитоплазме, причем эти катаболиче-



Рис. 3. Основные пути метаболизма пировиноградной кислоты. Жирной стрелкой обозначен доминирующий путь утилизации пирувата в головном мозгу

1 — аланинаминотрансфераза; 2 — лактатдегидрогеназа; 3 — НАДФ-специфическая малатдегидрогеназа, декарбоксилирующая; 4 — пируватдегидрогеназный комплекс; 5 — пируваткарбоксилаза.

ские превращения наиболее интенсивно осуществляются в печени и почках. В головном мозгу они играют весьма небольшую роль в пополнении пула пирувата. В обоих компартментах

Таблица 12

Активность ферментов, участвующих в метаболизме пировиноградной кислоты в митохондриях головного мозга, печени и сердца крыс; миллиед/г ткани (Ещенко и др., 1977)

Фермент	Кора больших полушарий головного мозга	Печень	Сердце
Пируватдегидрогеназа	752 ± 40	405 ± 56	544 ± 43
Пируваткарбоксилаза*	160 ± 21	530 ± 45	485 ± 37
Лактатдегидрогеназа	480 ± 35	170 ± 9	104 ± 19
Аланинаминотрансфераза	71 ± 5	383 ± 29	784 ± 31
НАДФ-малатдегидрогеназа	85 ± 7	78 ± 4	91 ± 11

\* Активность пируваткарбоксилазы приведена по данным Salganicoff, Коеппе (1968).

клетки протекают легко обратимая аланинаминотрансферазная и НАДФ-малатдегидрогеназная реакции, равновесие последней



то цитоплазматическая пировиноградная кислота л  
ает через митохондриальные мембраны и включает  
лические превращения в обоих клеточных компарт  
ируватдегидрогеназная и пируваткарбоксилазная р  
средоточены исключительно в митохондриях. Образ  
рувата из аминокислот (треонина, глицина, серина,  
цистеина) идет в цитоплазме, причем эти катабо



Рис. 3. Основные пути метаболизма пировиноградной кислоты. Жирной стрелкой обозначен доминирующий путь утилизации пирувата в головном мозгу

1 — аланинаминотрансфераза; 2 — лактатдегидрогеназа;  
3 — НАДФ-специфическая малатдегидрогеназа, декарбоксилирующая; 4 — пируватдегидрогеназный комплекс;  
5 — пируваткарбоксилаза.

превращения наиболее интенсивно осуществляются в почках. В головном мозгу они играют весьма небольшую роль в пополнении пула пирувата. В обоих компартментах

Табл.

ность ферментов, участвующих в метаболизме пировиноградной кислоты в митохондриях головного мозга, печени и сердца





Рис. 3. Основные пути метаболизма пировиноградной кислоты. Жирной стрелкой обозначен доминирующий путь утилизации пирувата в головном мозгу

1 — аланинаминотрансфераза; 2 — лактатдегидрогеназа; 3 — НАДФ-специфическая малатдегидрогеназа, декарбоксилирующая; 4 — пируватдегидрогеназный комплекс; 5 — пируваткарбоксилаза.

ские превращения наиболее интенсивно осуществляются в печени и почках. В головном мозгу они играют весьма небольшую роль в пополнении пула пирувата. В обоих компартментах

Таблица 12

Активность ферментов, участвующих в метаболизме пировиноградной кислоты в митохондриях головного мозга, печени и сердца крыс; миллиед/г ткани (Ещенко и др., 1977)

Фермент	Кора больших полушарий головного мозга	Печень	Сердце
Пируватдегидрогеназа	752 ± 40	405 ± 56	544 ± 43
Пируваткарбоксилаза*	160 ± 21	530 ± 45	485 ± 37
Лактатдегидрогеназа	480 ± 35	170 ± 9	104 ± 19
Аланинаминотрансфераза	71 ± 5	383 ± 29	784 ± 31
НАДФ-малатдегидрогеназа	85 ± 7	78 ± 4	91 ± 11

\* Активность пируваткарбоксилазы приведена по данным Salganicoff, Koeppel (1968).

клетки протекают легко обратимая аланинаминотрансферазная и НАДФ-малатдегидрогеназная реакции, равновесие последней



в физиологических условиях сдвинуто в сторону образования малата.

Оценивая относительное значение каждого из основных метаболических превращений, в которых участвует пировиноградная кислота, необходимо подчеркнуть важную роль пируватдегидрогеназной реакции в использовании этого субстрата в головном мозгу. Активность остальных ферментов, конкурирующих за пируват в митохондриях и вовлекающих этот субстрат в дальнейшие метаболические превращения, значительно ниже, чем активность пируватдегидрогеназного комплекса (табл. 12). Особенности контроля над процессом окислительного декарбоксилирования пирувата в мозгу будут рассмотрены в следующем разделе.

### Лактатдегидрогеназная реакция

Среди конечных этапов гликолиза и реакций, в которых участвует пировиноградная кислота, определенный интерес представляет лактатдегидрогеназная реакция. Подавляющая доля активности лактатдегидрогеназы (*L*-лактат: НАД-оксидоредуктаза, 1.1.1.27) в большинстве тканей связана с цитоплазмой. Однако в последние годы установлено, что в головном мозгу до 10% от общей лактатдегидрогеназной активности клеток обнаруживается в митохондриях. В других тканях доля митохондриальной лактатдегидрогеназы значительно меньше: в печени, например, менее 1%. Эта отличительная особенность локализации фермента в головном мозгу, несомненно, имеет определенный физиологический смысл — поддержание динамического равновесия в системе лактат  $\rightleftharpoons$  пируват как в норме, так и при различных функциональных состояниях. Предполагается, что лактатдегидрогеназа, локализованная на внешней митохондриальной мембране, способствует более полному использованию конечных продуктов гликолиза (лактата и пирувата) в митохондриях.

Поскольку легкообратимая лактатдегидрогеназная реакция является практически единственным путем метаболизма молочной кислоты, а интенсивность других путей ее обмена чрезвычайно мала, то лактат можно рассматривать как мощный резервный фонд пировиноградной кислоты, вследствие чего оба эти компонента логично объединить в единый метаболический пул.

Общая активность лактатдегидрогеназы (при расчете на 1 мг белка) в нейроглиальной фракции в несколько раз выше, чем в нейронах, причем эта разница касается не только суммарной активности фермента, но и соотношения между изоферментами. Установлено, что в нейронах изоферменты ЛДГ<sub>2</sub> и ЛДГ<sub>4</sub> обладают относительно низкой активностью, в то время как в нейроглиальных клетках активность изоферментов лактатдегидроге-

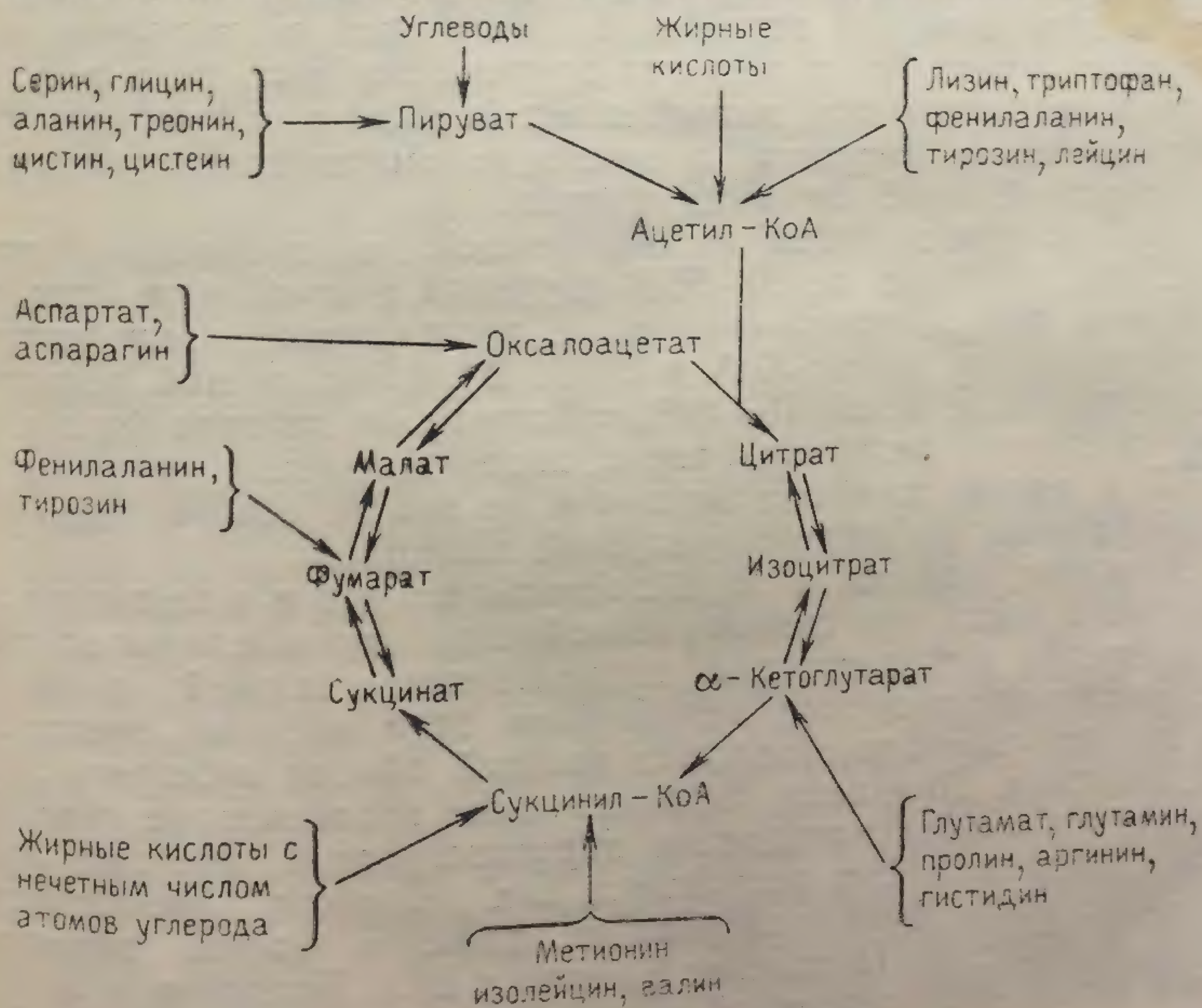


назы примерно одинакова. На основании этих наблюдений в лаборатории Хидена сделано заключение о том, что нейронам свойствен аэробный обмен, тогда как метаболизм нейроглии адаптирован и к анаэробным условиям.

Суммируя специфические для головного мозга особенности в протекании реакций гликолиза и их регуляции, следует еще раз подчеркнуть: 1) особую важность для энергетического метаболизма мозга гексокиназной реакции как основного пути ввода окисляемых субстратов в гликолитическую цепь; 2) одностороннюю и синхронную регуляцию со стороны адениновых нуклеотидов скорости наиболее медленных этапов гликолиза — гексокиназной и фосфофруктокиназной реакций, что позволяет объединить эти два фермента в единый функциональный комплекс; 3) специфическую для головного мозга внутриклеточную локализацию лактатдегидрогеназы не только в цитоплазме, но и в митохондриях, что дает возможность наиболее полно использовать лактат и пируват в дальнейших превращениях в митохондриях.

### 3.3. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И МЕХАНИЗМЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ЕГО СКОРОСТЬ В МОЗГУ

Цикл трикарбонных кислот (ЦТК) является универсальным окислительным механизмом клетки. Как известно, ввод

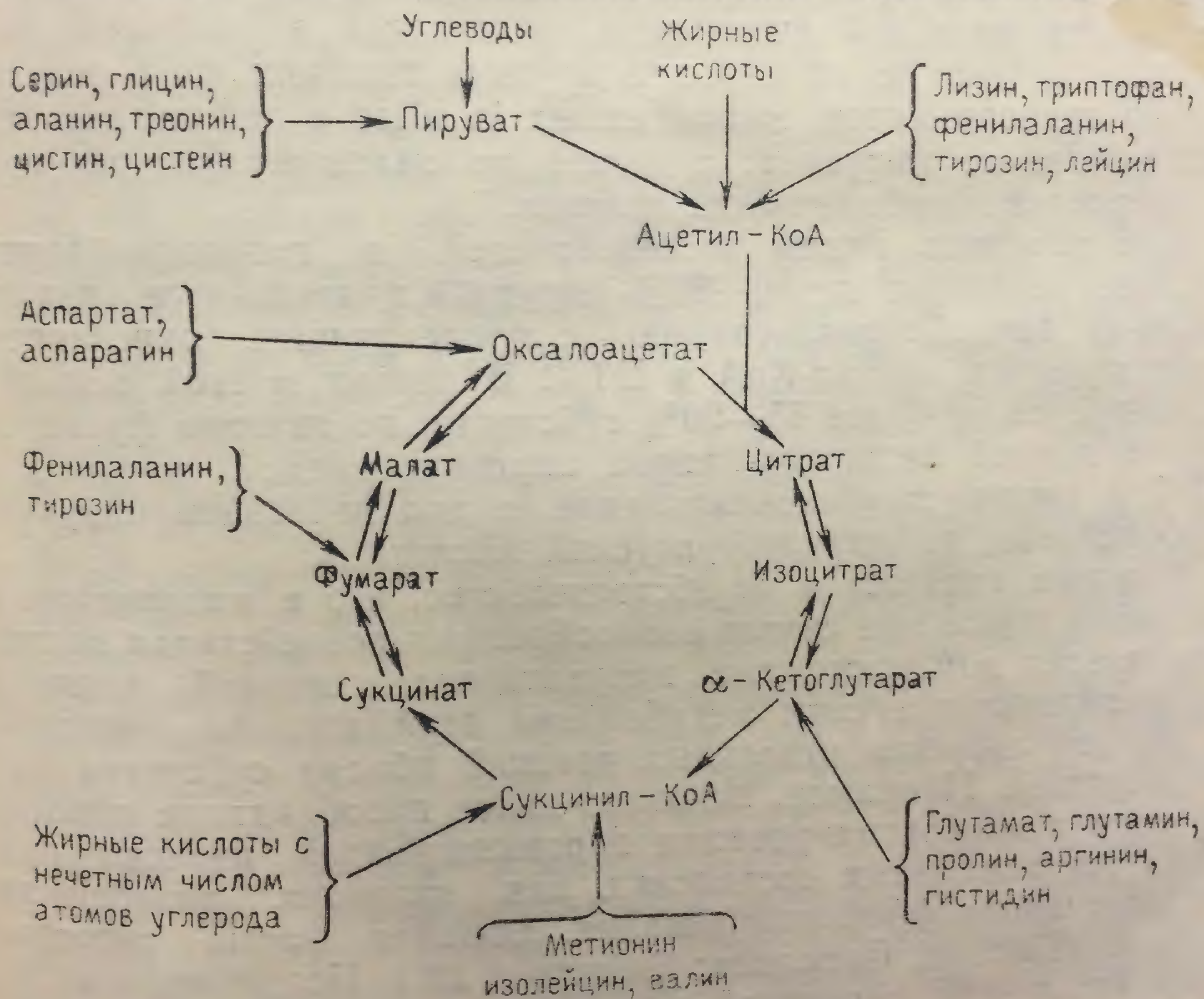




звolyет объединить эти два фермента в единый функциональ-  
ный комплекс; 3) специфическую для головного мозга внутри-  
клеточную локализацию лактатдегидрогеназы не только в ци-  
топлазме, но и в митохондриях, что дает возможность наибо-  
лее полно использовать лактат и пируват в дальнейших превра-  
щениях в митохондриях.

### 3.3. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И МЕХАНИЗМЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ЕГО СКОРОСТЬ В МОЗГУ

Цикл трикарбонoвых кислот (ЦТК) является универсаль-  
ным окислительным механизмом клетки. Как известно, ввод





окисляемых компонентов в ЦТК осуществляется несколькими путями (см. с. 49), причем значение каждого из них в различных тканях неодинаково. Это обстоятельство создает дополнительные трудности при расшифровке механизмов регуляции такой сложной мультиэнзимной системы, как ЦТК.

### Основные источники пула метаболитов ЦТК. Пути образования ацетил-КоА

Важнейшим соединением, за счет которого все время пополняется пул компонентов ЦТК, в большинстве тканей служит ацетил-КоА, который является одним из субстратов цитратсинтазной реакции. Это вещество может образовываться в целом ряде метаболических превращений. В митохондриях головного мозга основным поставщиком ацетил-КоА служит реакция окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты под действием пируватдегидрогеназного комплекса.

Пируватдегидрогеназная реакция. Из данных, приведенных в табл. 12, отчетливо видно, что среди путей утилизации пировиноградной кислоты в митохондриях головного мозга доминирует окислительное декарбоксилирование под действием пируватдегидрогеназного (ПДГ) комплекса (пируват:липоат-оксидоредуктаза, ацетилирующая акцептор; 1.2.4.1). Это подтверждается не только более высокими значениями максимальной активности комплекса в митохондриях мозга по сравнению со многими другими тканями, но и результатами экспериментов, выполненных *in vitro* с использованием радиоактивного пирувата, а также математическими расчетами скоростей метаболических потоков.

Как показано рядом исследователей, в головном мозгу взрослых животных до 80—90% пирувата подвергается окислительному декарбоксилированию с последующим окислением образующегося ацетил-КоА в ЦТК. В печени в этой реакции используется не более 15—20% субстрата, но активно функционирует другой механизм ввода пировиноградной кислоты в ЦТК, а именно карбоксилирование ее под действием пируваткарбоксилазы до щавелевоуксусной кислоты.

Важным является и то обстоятельство, что в митохондриях головного мозга при самых разнообразных воздействиях всегда сохраняется доминирование пируватдегидрогеназной реакции над остальными путями метаболизма этой кислоты, несмотря на то, что скорости отдельных реакций обмена субстрата могут меняться. Например, показано явное преобладание окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты при таких экстремальных состояниях, как гипоксия, разобщение окислительного фосфорилирования, тяжелая форма тиреотоксикоза (Ещенко, Путилина; Ещенко и др.). Напротив, в митохондриях печени, сердечной и скелетных мышц, почек при изме-



нении функционального состояния, при метаболических сдвигах разной природы преобладающим может стать любой из основных путей метаболизма пирувата. Так, в митохондриях печени в условиях интенсивного глюконеогенеза скорость реакции карбоксилирования пирувата в 5—10 и более раз превышает скорость пируватдегидрогеназной реакции. Таким образом, окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты играет в головном мозгу особую важную роль.

Большое значение ПДГ-реакции для метаболизма нервной ткани подтверждается также более высокой по сравнению с другими тканями чувствительностью ее к недостатку тиамин. Нарушение образования тиаминпирофосфата вызывает значительное угнетение окислительного декарбоксилирования пирувата, особенно резко проявляющееся в головном мозгу и приводящее к нарушениям его функциональной активности.

Регуляция активности сложного мультиэнзимного пируватдегидрогеназного комплекса осуществляется несколькими путями. В настоящее время наиболее детально исследован механизм ковалентной химической модификации фермента. Этот механизм включает АТФ-зависимое фосфорилирование с помощью ПДГ-киназы, приводящее к образованию неактивного комплекса; напротив, дефосфорилирование, катализируемое специфической фосфатазой, приводит к образованию активной формы комплекса. Реакциям фосфорилирования-дефосфорилирования подвергается лишь один из компонентов ПДГ-комплекса, а именно пируватдекарбоксилаза.

Фосфатазная реакция, т. е. активирование ПДГ-комплекса, стимулируется высокими концентрациями ионов  $Mg^{2+}$  и низкими —  $Ca^{2+}$ . Реакция фосфорилирования, т. е. инактивации ПДГ-комплекса, усиливается в присутствии высоких концентраций АТФ и ионов магния, но тормозится при возрастании уровня АДФ, который конкурирует в реакции с АТФ. Другими словами, важным фактором в регуляции взаимопревращений активной и неактивной форм ПДГ-комплекса является внутримитохондриальное отношение АТФ/АДФ.

Кроме величины отношения АТФ/АДФ в митохондриях к факторам, контролирующим скорость окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты, относится уровень продуктов реакции — ацетил-КоА и НАДН<sub>2</sub>. Накопление их в митохондриях ведет к торможению пируватдегидрогеназной реакции. Относительная роль этих факторов в регуляции ПДГ-реакции в мозгу неодинакова. Концентрация НАДН<sub>2</sub>, а точнее величина отношения  $НАД^+/НАДН_2$ , относится к весьма лабильным величинам, особенно в митохондриях тканей с высокой интенсивностью окислительно-восстановительных процессов, вследствие чего этот фактор участвует в контроле скорости ПДГ-реакции в одинаковой степени как в головном мозгу, так и в других тканях.



Напротив, регуляторная роль ацетил-КоА в головном мозгу меньше, чем в тех тканях, которые способны к окислению больших количеств свободных жирных кислот и, следовательно, к значительным изменениям в концентрации ацетил-КоА. Так, концентрация ацетил-КоА в головном мозгу крыс, составляющая в среднем  $(2,0-2,5) \cdot 10^{-5}$  М, является у взрослых животных величиной достаточно стабильной и мало изменяется при различных воздействиях. В печени средние значения концентрации этого метаболита  $(4-5) \cdot 10^{-5}$  М; при усилении окисления свободных жирных кислот эта величина может возрастать в 5—7 раз, в результате отношение ацетил-КоА/КоА в митохондриях увеличивается с 0,12 до 0,70—0,75. Повышение относительной доли ацетил-КоА в таком случае будет сопровождаться угнетением активности ПДГ-комплекса, поскольку величина  $K_i$  фермента составляет, по данным ряда исследователей,  $(2-5) \times 10^{-5}$  М.

Таким образом, на основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что в митохондриях головного мозга доминирующим путем метаболизма пировиноградной кислоты является окислительное декарбоксилирование. Среди факторов множественного контроля над скоростью этого процесса в мозговой ткани основную роль играет изменение отношения АТФ/АДФ и отношения НАД<sup>+</sup>/НАДН<sub>2</sub> в митохондриях. Опыты с <sup>2</sup><sup>14</sup>С-пируватом позволяют показать, что скорость использования образующегося в ПДГ-реакции ацетил-КоА для синтеза цитрата в головном мозгу в 3,0—4,5 раза выше, чем в печени, почках и сердце.

Свободные жирные кислоты и кетоновые тела как источники ацетил-КоА в мозгу. Образование ацетил-КоА для биосинтеза цитрата кроме ПДГ-реакции может происходить в реакциях окисления свободных жирных кислот или кетоновых тел, а также в ходе метаболических превращений ряда аминокислот. Однако оба эти пути пополнения фондов ацетил-КоА, имеющие большое значение для многих других тканей, в мозгу взрослых животных играют весьма скромную роль. Например, в экспериментах с <sup>14</sup>С-глюкозой и <sup>14</sup>С-пальмитиновой кислотой, выполненных Кэри на срезах мозга кролика, установлено, что до СО<sub>2</sub> и Н<sub>2</sub>О окисляется  $385 \pm 15$  нмоль глюкозы и лишь 0,02—0,04 нмоль жирной кислоты в расчете на 1 г ткани в час. Такая колоссальная разница в скорости утилизации двух энергетических субстратов объясняется низкой активностью ферментов, лимитирующих окисление свободных жирных кислот в мозгу взрослых животных, и в первую очередь низкой активностью ацил-КоА-синтазы.

Напротив, в головном мозгу растущих животных свободные жирные кислоты, и особенно кетоновые тела, окисляются гораздо интенсивнее, чем у взрослых. Это обусловлено более высокой концентрацией кетоновых тел в крови в неонатальный



период, когда животное получает в основном молочную пищу. Кроме того, с возрастом, по мере формирования гемато-энцефалического барьера, уменьшается скорость поглощения мозгом кетонных тел из крови. Так, при одинаковой концентрации их в крови артерио-венозная разница для мозга 16—20-дневных крыс в 3—4 раза выше, чем у взрослых.

Еще одним важным обстоятельством, обуславливающим более интенсивное использование кетонных тел мозгом растущих животных, является высокая активность ферментов, лимитирующих скорость этого процесса — 3- $\beta$ -оксидобутиратдегидрогеназы, КоА-трансферазы  $\beta$ -кислот и ацетоацетил-КоА-тиолазы. Активность первых двух энзимов обнаруживается в мозгу уже при рождении, быстро повышается, достигая максимума к 20—25 дню, а затем также резко снижается. У 20—25-дневных крыс активность этих ферментов в 2—3 раза выше, чем у взрослых животных. Аналогичный характер носят возрастные изменения активности митохондриальной формы ацетоацетил-КоА-тиолазы, хотя общая активность фермента в нервных клетках наиболее высока у новорожденных животных, а затем постепенно снижается. Ранняя постнатальная индукция «ключевых» ферментов метаболизма кетонных тел контрастирует со значительно более медленным возрастанием активности лимитирующих ферментов гликолиза, ЦТК, а также пируватдегидрогеназного комплекса. Рисунок 4 наглядно иллюстрирует эти взаимосвязи. Из-за значительного (в 3,5—4,5 раза) преобладания активности ацетил-КоА-тиолазы над активностью ПДГ у растущих животных ацетилирование свободного КоА—SH происходит главным образом в тиолазной реакции, а у взрослых, наоборот, — в пируватдегидрогеназной.

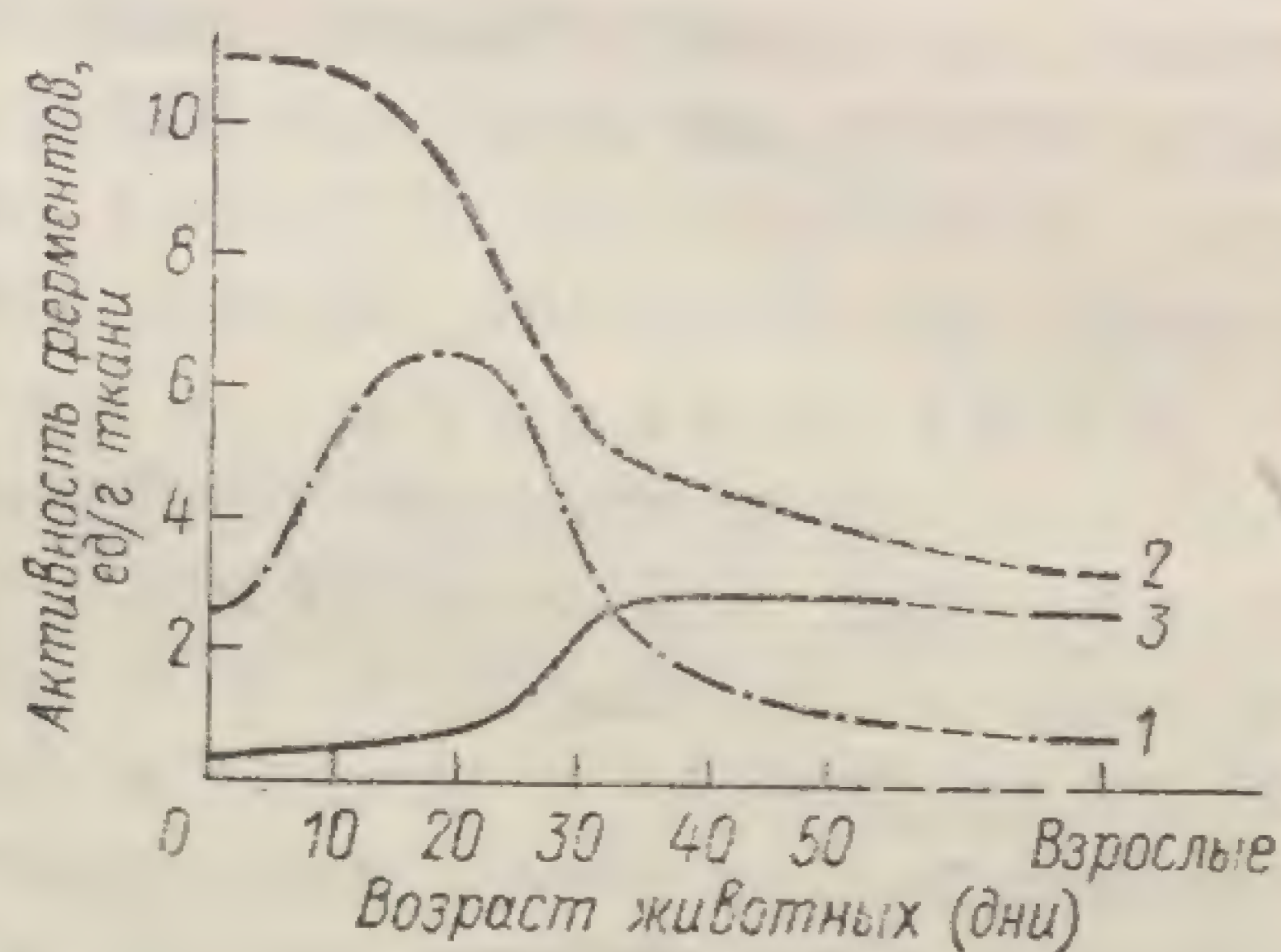


Рис. 4. Возрастные изменения активности ключевых ферментов метаболизма кетонных тел и пируватдегидрогеназного комплекса в головном мозгу крыс (Wieland e. a., 1973, Williamson, 1973)

1 —  $\beta$ -гидроксидобутиратдегидрогеназа; 2 — ацетоацетил-КоА-тиолаза; 3 — пируватдегидрогеназный комплекс.

Необходимо отметить, что в головном мозгу растущих животных ацетил-КоА, образующийся в ходе метаболизма кетонных тел, расходуется не только на окисление в ЦТК, но в значительной мере идет на процессы биосинтеза специфических липидов мозга. Интенсивное окисление кетонных тел характерно именно для периода миелинизации, роста аксонов и дендритов и образования функциональных синаптических комплексов.



Использование кетоновых тел в качестве источника ацетил-КоА, но уже не для биосинтетических реакций, а для окисления в ЦТК, т. е. в качестве энергетических субстратов, возможно и в мозгу взрослых животных при ряде экстремальных состояний. В частности, это имеет место при длительном голодании, когда на фоне резкого уменьшения углеводных ресурсов организма значительно возрастает концентрация кетоновых тел в крови за счет распада и окисления липидов из жировых депо. Аналогичные ситуации наблюдаются также при тяжелых формах диабета или тиреотоксикоза.

Аминокислоты как источники ацетил-КоА. Реакции превращения свободных аминокислот (тирозина, фенилаланина, лейцина, лизина, триптофана и др.), ведущие к образованию ацетил-КоА, у взрослых животных наиболее интенсивно протекают в печени и почках, где они могут эффективно пополнять пул этого метаболита. В головном мозгу роль такого пути образования ацетил-КоА весьма незначительна.

Превращения этих аминокислот, а также кетоновых тел в мозгу взрослых животных сосредоточены главным образом в «малом», т. е. глутамин-синтезирующем, компартменте, где особенно ярко проявляется анаболическая функция ЦТК. Морфологически этот компартмент приурочен к нейроглиальным клеткам. Напротив, катаболическая, энергетическая функция ЦТК наиболее четко проявляется в «большом» компартменте мозга, где интенсивно протекают реакции аэробного окисления глюкозы. Нейрохимики и нейроморфологи на основании многочисленных экспериментов с  $^{14}\text{C}$ -предшественниками считают, что этот метаболический компартмент объединяет нейрональные структуры. Судя по расчетам Ван ден Берга и Гарфинкеля, скорости метаболических потоков для мозга мышей составляют 1,25 и 0,30 мкмоль субстрата (ацетил-КоА) за минуту в расчете на 1 г сырого веса ткани соответственно для «большого» и «малого» компартментов. Обмен метаболитов между компартментами осуществляется относительно медленно; скорость потока в данном случае составляет в среднем 0,14 мкмоль субстрата за минуту в расчете на 1 г ткани.

#### **Использование аминокислот в качестве предшественников компонентов ЦТК**

Свободные аминокислоты, а также аминокислоты, образующиеся при расщеплении белков, могут окисляться после превращения их в различные компоненты ЦТК. Как известно, существует несколько путей ввода углеродных скелетов аминокислот в ЦТК (см. с. 49), причем относительная роль их в пополнении пула метаболитов ЦТК различна в разных тканях. Наиболее интенсивно метаболизм аминокислот протекает в пече-



ни, где эти соединения играют значительную роль в энергетическом обмене.

В энергетическом метаболизме нервной ткани особое место принадлежит аминокислотам глутаминовой группы. Более детально их роль и пути метаболизма рассматриваются в специальном разделе (гл. 7), здесь лишь уместно упомянуть, что для головного мозга характерно высокое содержание аминокислот этой группы (табл. 13) и значительная активность ферментов их обмена в митохондриях.

Таблица 13

Среднее содержание аминокислот глутаминовой группы в головном мозгу и печени крыс (Rose, 1970; Shimada e. a., 1973)

Аминокислота	В целой ткани, мкмоль/г		В обогащенных фракциях коры больших полушарий мозга, нмоль/мг белка	
	Мозг	Печень	Нейроны	Нейроглия
Глутаминовая	7,3—9,5	1,5—1,7	$14,13 \pm 2,08$	$23,01 \pm 2,89$
Глутамин	3,8—4,7	1,8—2,3	$6,94 \pm 1,38$	$4,79 \pm 0,60$
Аспарагиновая + аспарагин	4,5—5,8	0,4—0,7	$6,03 \pm 1,46$	$6,33 \pm 0,76$
ГАМК	1,9—2,4	Следы	$3,15 \pm 1,15$	$4,10 \pm 0,45$

Активность аспартатаминотрансферазы (*L*-аспартат: 2-оксо-глутарат-аминотрансфераза, 2.6.1.1) в митохондриях мозга взрослых крыс составляет в среднем 30—35 мкмоль субстрата/мин в расчете на 1 г ткани, что в 7—10 раз превышает активность фермента в мозгу новорожденных животных, а также значительно выше, чем в митохондриях печени. Высокая активность трансаминаз и глутаматдегидрогеназы в митохондриях головного мозга указывает на возможность использования аминокислот данной группы в качестве дополнительного энергетического источника, что особенно важно при различных экстремальных состояниях.

Из других путей метаболизма аминокислот, которые играют определенную, хотя и небольшую роль в энергетическом метаболизме головного мозга, можно упомянуть превращение аспартата и аспарагина в оксалоацетат, а также аланина и серина в пируват. Очень невелико значение аминокислот как предшественников таких компонентов ЦТК, как сукцинил-КоА (изолейцин, метионин, валин) или фумарат (тирозин, фенилаланин).

Суммируя приведенные данные, можно сделать заключение, что основным путем ввода окисляемых субстратов в ЦТК в головном мозгу служит образование ацетил-КоА в пируватдегидрогеназной реакции. Дополнительным источником для пополнения пула метаболитов ЦТК могут быть аминокислоты глутами-



Содержание основных компонентов и активность ферментов ЦТК в головном мозгу и печени крыс (Ещенко, Путилина, 1973; Прохорова и др., 1975; Голубев, Ещенко, 1976; Ещенко, Прохорова, 1976)

Компоненты ЦТК	Содержание, ммоль/г ткани		Ферменты ЦТК	Активность ферментов в митохондриях, ммоль субстрата/мг белка за 1 мин	
	Мозг	Печень		Мозг	Печень
Ацетил-КоА* + Оксалоацетат ↓ Цитрат ↓ Изоцитрат ↓ α-Кетоглутарат ↓ Сукцинат ↓ Фумарат ↓ Малат ↓ Оксалоацетат	11,0 ± 0,9  7,49 ± 0,35  320 ± 12  27,3 ± 3,5  125 ± 10  791 ± 26  —  356 ± 21  7,49 ± 0,35	4,0 — 5,0  9,01 ± 0,40  228 ± 9  24,0 ± 3,0  114 ± 9  804 ± 24  —  420 ± 28  9,01 ± 0,40	Цитратсинтаза   Аконитаза**  НАД-изоцитратдегидрогеназа НАДФ-изоцитратдегидрогеназа α-Кетоглутаратдегидрогеназа  Сукцинатдегидрогеназа  Фумараза   НАД-малатдегидрогеназа	8,2 ± 0,3  46,0 ± 3,1  28,3 ± 2,2 19,6 ± 1,5 58,9 ± 3,1 106,0 ± 15,7 — 407 ± 35,5	6,4 ± 0,3  —  5,6 ± 0,4 32,0 ± 2,4 64,5 ± 4,9 145,2 ± 20,1 — 385,0 ± 40,2

\* Содержание ацетил-КоА приведено по данным Reynolds, Blass, 1975 — в мозгу и по данным Gumaа, Mclean, Greenbaum, 1971 — в печени.

\*\* Активность аконитазы — по данным Patel, 1974.

новой ки  
животн  
Пр  
мозгу  
стадия  
служит  
тов чел  
о сред  
нии ег  
Видно  
митир  
мозгу,  
окисле  
Ре  
оксало  
поскол  
мых  
шей е  
Именн  
сма  
ный э  
ЦТК.  
Ск  
биоси  
сколь  
ценн  
являе  
синта  
ты М  
ацети  
тивно  
рующ  
конст  
ферм  
трац  
виях  
явля  
тель  
равн  
конс  
же в  
дриа  
стан



новой группы, в то время как кетоновые тела и свободные жирные кислоты интенсивно окисляются лишь мозгом растущих животных.

При рассмотрении особенностей регуляции ЦТК в головном мозгу прежде всего следует остановить внимание на тех его стадиях, которые протекают с наименьшей скоростью и могут служить точками контроля общей скорости потока метаболитов через цикл. В табл. 14 приведены полученные нами данные о средней величине активностей ферментов ЦТК и содержании его основных компонентов в головном мозгу и печени крыс. Видно, что к наиболее медленным этапам, которые могут лимитировать скорость потока субстратов через цикл, в головном мозгу, как и в других тканях, относятся реакции синтеза и окисления цитрата.

### Цитратсинтазная реакция и регуляция ее скорости в головном мозгу

Реакция образования лимонной кислоты из ацетил-КоА и оксалоацетата привлекает особое внимание среди этапов ЦТК, поскольку она служит основным путем ввода в цикл окисляемых метаболитов, а активность цитратсинтазы, катализирующей ее, значительно ниже активности других ферментов ЦТК. Именно из-за этих обстоятельств цитратсинтазная реакция рассматривается многими исследователями как важный регуляторный этап, контролирующий скорость потока метаболитов через ЦТК.

Скорость необратимой в физиологических условиях реакции биосинтеза лимонной кислоты находится под контролем нескольких одновременно действующих факторов. В опытах со щенными ферментативными препаратами найдено, что АТФ является отрицательным аллостерическим модулятором цитратсинтазы. Эффект нуклеотида обусловлен повышением константы Михаэлиса фермента для ацетил-КоА. Субстраты реакции — ацетил-КоА и оксалоацетат — также участвуют в регуляции активности цитратсинтазы (цитрат-оксалоацетат-лиаза, ацетилирующая КоА; 4.1.3.7). На основании сопоставления величин констант Михаэлиса, полученных на очищенных препаратах фермента и реально существующих в тканях животных концентраций этих метаболитов, Кребс пришел к выводу, что в условиях *in vivo* из этих двух регуляторных факторов основным является концентрация щавелевоуксусной кислоты. Действительно, внутримитохондриальная концентрация оксалоацетата равна по расчетам  $(2,0-5,0) \cdot 10^{-7}$  М, т. е. значительно ниже константы Михаэлиса цитратсинтазы  $((1,6-4,0) \cdot 10^{-6}$  М). В то же время концентрация ацетил-КоА, составляющая в митохондриях  $(2,0-5,0) \cdot 10^{-5}$  М, гораздо выше соответствующей константы фермента ( $K_M = (1,4-1,6) \cdot 10^{-7}$  М). Следовательно,



в физиологических условиях накопление этого субстрата в митохондриях не может существенно влиять на скорость биосинтеза лимонной кислоты.

Таким образом, *in vivo* скорость цитратсинтазной реакции контролируется главным образом двумя факторами: концентрацией отрицательного аллостерического эффектора фермента АТФ (точнее его относительной долей в общем пуле адениновых нуклеотидов внутри митохондрий) и концентрацией щавелевоуксусной кислоты. Как показали эксперименты с радиоактивными предшественниками и расчеты скоростей метаболических потоков на начальном этапе ЦТК, относительная регуляторная роль этих факторов в функционально различных органах неодинакова.

Нами был проведен корреляционный анализ зависимости между интенсивностью биосинтеза цитрата и содержанием основных контролирующих его факторов (оксалоацетат, адениновые нуклеотиды) в головном мозгу и печени крыс. В этих экспериментах для оценки интенсивности биосинтеза цитрата в органах интактного животного использовали как величины активности цитратсинтазы и содержание лимонной кислоты в тканях, так и результаты опытов по включению в цитрат радиоактивных предшественников ( $2^{14}\text{C}$ -ацетата,  $2^{14}\text{C}$ -пирувата и др.). Анализ всего комплекса показателей в норме и при резких нарушениях энергетического обмена, вызванных разобщением окислительного фосфорилирования, гипоксией или тяжелой формой тиреотоксикоза, дал возможность установить, что в головном мозгу во всех случаях проявляется наиболее четкая зависимость между интенсивностью биосинтеза цитрата и отношением адениновых нуклеотидов, а в печени — между скоростью цитратсинтазной реакции и уровнем оксалоацетата.

В печени щавелевоуксусная кислота является компонентом многих интенсивно протекающих метаболических превращений (трансаминирования, пируваткарбоксилазной реакции и др.), и при изменениях функционального состояния животного концентрация этого субстрата варьирует в широких пределах. Поэтому не удивительно, что этот фактор доминирует в митохондриях печени в системе контроля над активностью цитратсинтазы.

В митохондриях головного мозга, напротив, ведущую роль в контроле над скоростью биосинтеза цитрата *in vivo* играет изменение концентрации АТФ. Причем, как и во многих других случаях, здесь имеет значение не столько абсолютная величина концентрации АТФ, сколько изменение его доли в общем пуле адениновых нуклеотидов. Таким образом, в митохондриях мозга можно проследить четкую зависимость между скоростью начального, самого медленного, этапа ЦТК и содержанием в клетке основных компонентов энергетического обмена.



## Изоцитратдегидрогеназные реакции и их регуляция в головном мозгу

Основным путем метаболизма лимонной кислоты в мозговой ткани является окисление ее в изоцитратдегидрогеназных реакциях после превращения под действием аконитазы в лимонную кислоту. Активность аконитазы (цитрат (изоцитрат)-гидролиаза, 4.2.1.3) значительно превышает активность как цитратсинтазы, так и изоцитратдегидрогеназ (см. табл. 14), и, следовательно, она не лимитирует скорость взаимопревращения трикарбоновых кислот. В головном мозгу взрослых животных до 98% цитрата подвергается дальнейшему окислению, и лишь около 2% расщепляется в цитратлиазной реакции до ацетил-КоА и щавелевоуксусной кислоты. В других тканях (печень, жировая ткань) доля лимонной кислоты, подвергающаяся расщеплению цитратлиазой, может быть в 2—5 раз выше.

Окисление изолимонной кислоты осуществляется двумя типами изоцитратдегидрогеназ (ИЦДГ): НАД-зависимым ферментом ( $L_s$ -изоцитрат: НАД-оксидоредуктаза, 1.1.1.41), катализирующим необратимую реакцию, которая протекает исключительно в митохондриях, а также НАДФ-специфичным энзимом ( $L_s$ -изоцитрат: НАДФ-оксидоредуктаза, 1.1.1.42), катализирую-

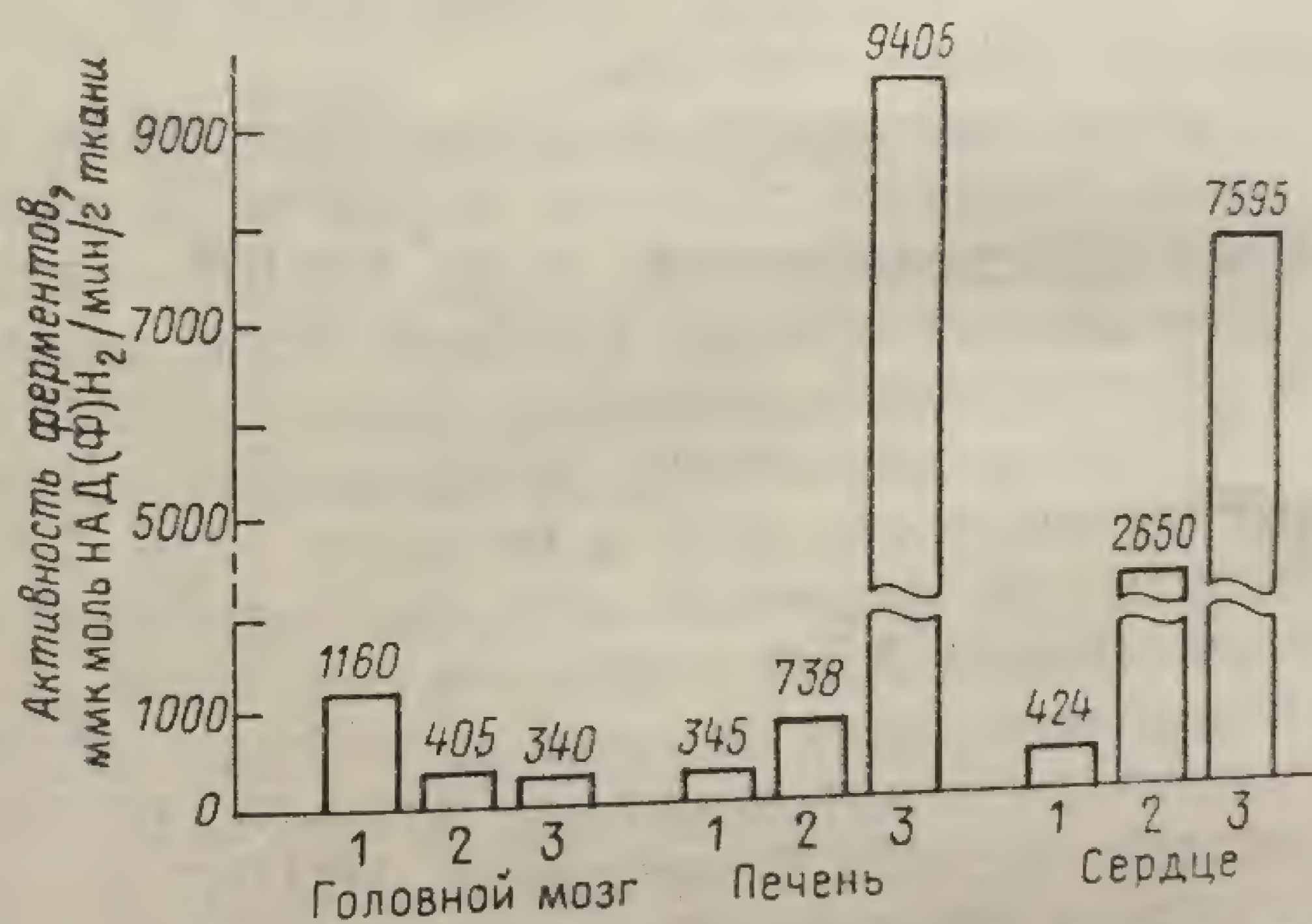


Рис. 5. Роль НАД- и НАДФ-специфичных изоцитратдегидрогеназ в окислении изолимонной кислоты в различных тканях (Ещенко, Прохорова, 1976)  
1 — НАД-изоцитратдегидрогеназа; 2 — НАДФ-изоцитратдегидрогеназа митохондрий; 3 — НАДФ-изоцитратдегидрогеназа цитоплазмы.

щим обратимую реакцию как в митохондриях, так и в цитоплазме. Роль этих ферментов в окислении изолимонной кислоты далеко не одинакова. По нашим данным (рис. 5), а также судя по результатам ряда исследователей, в головном мозгу основная часть (до 65—70%) этого субстрата окисляется по



НАД-зависимому пути, поставляющему НАДН непосредственно в дыхательную цепь митохондрий и таким образом тесно связанному с поддержанием энергетического баланса клеток. Напротив, в печени, сердце и других тканях с помощью НАД-зависимой ИЦДГ окисляется менее 10% изоцитрата, а основная масса субстрата используется в НАДФ-ИЦДГ реакциях, особенно интенсивно протекающих в цитоплазме, где образующийся НАДФН может быть использован для разнообразных реакций восстановительных биосинтезов.

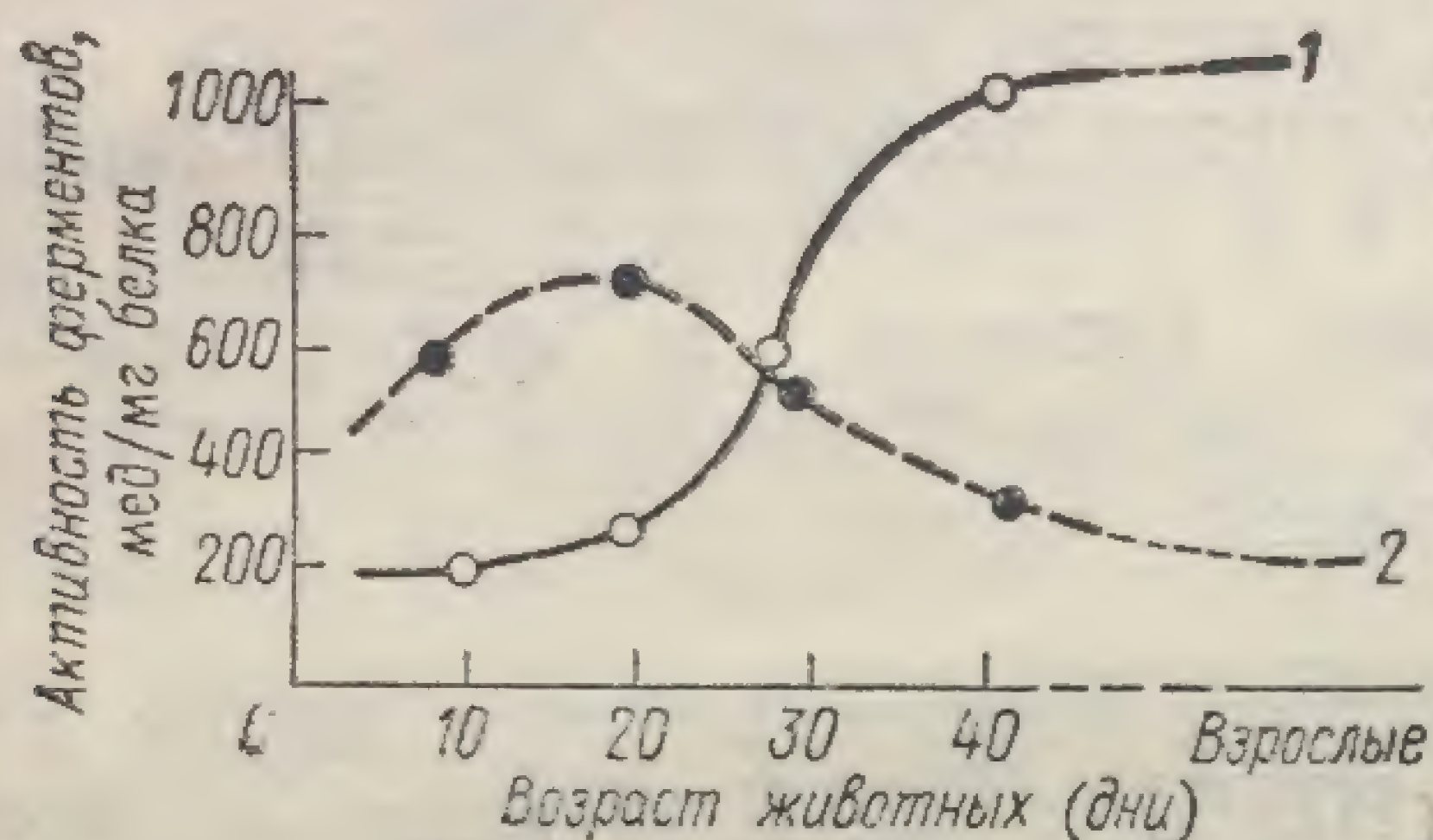


Рис. 6. Возрастные изменения активности НАД (1)- и НАДФ (2)-зависимых изоцитратдегидрогеназ в митохондриях головного мозга крыс (Ещенко и др., 1976).

Явное преобладание НАД-зависимого пути окисления изолимонной кислоты в митохондриях характерно лишь для мозга взрослых животных. В то же время у растущих животных в период интенсивного липогенеза, связанного с процессами миелинизации, значительная часть изоцитрата окисляется в НАДФ-ИЦДГ реакции (рис. 6) и может служить источником НАДФН для биосин-

теза специфических липидов мозга.

В головном мозгу регуляция скорости окисления изолимонной кислоты осуществляется главным образом за счет изменения активности НАД-специфичной, а не НАДФ-зависимой дегидрогеназы. Это обусловлено по крайней мере двумя обстоятельствами и прежде всего значительными различиями в величинах  $K_m$  субстрата для обеих дегидрогеназ. Для НАДФ-ИЦДГ  $K_m$  изоцитрата составляет в среднем  $(2,0—2,6) \cdot 10^{-6}$  М, а для НАД-зависимого фермента при физиологических значениях рН и концентрации АДФ достигает величины  $(1,0—1,5) \times 10^{-3}$  М. Сопоставление этих величин и средних значений концентрации изоцитрата в митохондриях  $((1—3) \cdot 10^{-4}$  М) убедительно показывает, что НАД-зависимая ИЦДГ в отличие от НАДФ-специфичного фермента функционирует в митохондриях в условиях, далеких от насыщения субстратом. При этом любое возрастание концентрации изоцитрата (например, при ускорении цитратсинтазной реакции) будет сопровождаться увеличением скорости лишь НАД-зависимого окисления этого субстрата. Уместно добавить, что, поскольку НАД-ИЦДГ обладает положительной кооперативностью по отношению к субстрату, то даже малый прирост концентрации изолимонной кислоты вызовет резкое повышение скорости его окисления.

Другим важным обстоятельством, объясняющим значение НАД-ИЦДГ для контроля над скоростью окисления изоцитра-



та, является то, что этот фермент в отличие от НАДФ-ИЦДГ относится к числу регуляторных. НАД-изоцитратдегидрогеназа представляет собой аллостерический фермент с « $K_m$ -кинетикой». В животных тканях АДФ служит положительным модулятором фермента, а АТФ, напротив, ингибирует его. Эффект АДФ обусловлен конформационными изменениями фермента, при которых возрастает его сродство к субстрату. Необходимо подчеркнуть, что эффективность адениннуклеотидного контроля активности НАД-ИЦДГ в этом, как и в ряде других случаев, определяется не столько абсолютными значениями концентраций АТФ, АДФ, АМФ, сколько соотношением высоко- и низкоэнергетических компонентов адениннуклеотидной системы. Четким показателем такого соотношения служит величина «энергетического заряда», расчет которой предложен Аткинсоном. «Энергетический заряд» представляет собой отношение

$$\frac{[АТФ] + [АДФ]/2}{[АТФ] + [АДФ] + [АМФ]}$$
 Теоретически возможные пределы колебания этой величины — от нуля, когда система не содержит макроэргических связей и все аденозинфосфаты представлены АМФ, до 1,0, когда система полностью насыщена макроэргическими связями, все аденозинфосфаты представлены АТФ.

Наряду с адениновыми нуклеотидами в контроле над активностью НАД-ИЦДГ принимают участие и пиридиновые нуклеотиды: восстановленная форма НАД ингибирует фермент. В последнее время в литературе появились данные и о возможном участии в регуляции активности НАД-ИЦДГ циклического 3', 5'-АМФ, под влиянием которого повышается сродство фермента к субстрату.

Как уже указывалось, роль НАД-зависимой ИЦДГ в окислении изоцитрата особенно велика в митохондриях головного мозга. Сопоставив механизмы регуляции скорости НАД-ИЦДГ и начального этапа ЦТК—цитратсинтазной реакции, можно сделать вывод о существовании специфической для мозговой ткани совместной (сопряженной) регуляции скорости этих двух лимитирующих этапов ЦТК. Действительно, активность обоих ферментов согласованно и однонаправленно меняется при изменении соотношения между компонентами адениннуклеотидной системы. Уменьшение доли АТФ в общем пуле адениновых нуклеотидов и возрастание относительного содержания АДФ и АМФ вызывает повышение активностей обоих ферментов. Кроме того, ускорение образования лимонной кислоты в цитратсинтазной реакции и сопровождающее его накопление изоцитрата в силу упомянутых выше различий в величинах  $K_m$  двух типов ИЦДГ также способствует увеличению активности именно НАД-ИЦДГ, на долю которой приходится окисление основной массы субстрата в митохондриях головного мозга.

Такая сопряженная регуляция начальных, лимитирующих этапов ЦТК, а также тесная зависимость их скорости от соот-



ношения основных компонентов адениннуклеотидной системы обуславливает существование в головном мозгу более «жесткой», чем в других тканях, корреляции между интенсивностью энергетического обмена и скоростью ЦТК. Эта характерная особенность позволила объединить цитратсинтазу и НАД-изоцитратдегидрогеназу в митохондриях мозга в единый функциональный комплекс (Ещенко, Прохорова, 1976), подобно тому как по предложению Лоури и соавторов объединены в аналогичный функциональный комплекс два важнейших фермента, определяющие скорость гликолиза в головном мозгу, — гексокиназа и фосфофруктокиназа.

В то же время в ряде других тканей, например в печени, роль НАД-ИЦДГ в окислении изоцитрата значительно меньше, чем в мозгу; основным путем окисления этого субстрата является НАДФ-зависимая реакция, скорость которой не контролируется ни адениновыми нуклеотидами, ни концентрацией изоцитрата (по крайней мере в пределах концентраций, близких к физиологическим). Следовательно, в данном случае основным регуляторным участком ЦТК, определяющим интенсивность потока метаболитов через цикл, служит одна цитратсинтазная реакция.

#### α-Кетоглутаратдегидрогеназная реакция

Важной для метаболизма нервной ткани стадией ЦТК является центральный участок цикла — реакции биосинтеза и окисления α-кетоглутаровой кислоты. Это объясняется уже упоминавшимся значением α-кетоглутарата как субстрата, тесно связанного с помощью целого ряда метаболических превращений с аминокислотами глутаминовой группы.

Реакцию окислительного декарбоксилирования α-кетоглутарата с образованием сукцинил-КоА катализирует α-кетоглутаратдегидрогеназа (2-оксоглутарат : липоат-оксидоредуктаза, ацетилирующая акцептор; 1.2.4.2), которая относится к числу наиболее сложно организованных мультиэнзимных комплексов. По своей структуре, механизму функционирования и контроля над активностью этот комплекс во многом сходен с рассмотренным выше пируватдегидрогеназным комплексом. Регуляция его активности также осуществляется за счет циклов фосфорилирования с образованием неактивной формы фермента и дефосфорилирования, приводящего к активации энзима. Одним из наиболее важных факторов регуляции активности фермента в нервной ткани является отношение АТФ/АДФ.

Специфичным для нервной ткани является участие α-кетоглутаровой кислоты в так называемом ГАМК-шунте, реакции которого приводят к образованию γ-аминомасляной кислоты, обладающей выраженным биологическим эффектом (см. подробнее в гл. 7). Поскольку в ГАМК-шунте минует реакция



окислительного декарбоксилирования  $\alpha$ -кетоглутарата и последующее субстратное фосфорилирование на уровне сукцинил-КоА, то некоторые исследователи полагают, что при переключении на данный обходной путь ЦТК будет в меньшей степени зависеть от уровня неорганического фосфата. В реакциях ГАМК-шунта может использоваться до 10%  $\alpha$ -кетоглутарата и, по мнению большинства нейрохимиков, основной биологический смысл этого механизма заключается в обеспечении образования и удаления  $\gamma$ -аминомасляной кислоты.

Активность ферментов, катализирующих конечные этапы ЦТК,—сукцинатдегидрогеназы (сукцинат (акцептор)-оксидоредуктаза, 1.3.99.1), фумаразы (*L*-малатгидролиаза, 4.2.1.2) и малатдегидрогеназы (*L*-малат: НАД-оксидоредуктаза, 1.1.1.37)—в мозгу, как и в других тканях, превышает активность ферментов начальных стадий цикла (см. табл. 14) и, следовательно, не ограничивает общую скорость цикла. Расчеты, выполненные на аналоговых вычислительных машинах, показывают, например, что на поддержание средней скорости потока метаболитов через ЦТК расходуется лишь 2—5% максимальной активности малатдегидрогеназы и около 15—20% активности сукцинатдегидрогеназы. Напротив, скорость потока метаболитов через ЦТК близка к максимальной активности цитратсинтазы и НАД-изоцитратдегидрогеназы.

Заканчивая рассмотрение реакций ЦТК и особенностей их регуляции в головном мозгу, следует кратко остановиться на значении сукцинатдегидрогеназной реакции. В отличие от других дегидрогеназ ЦТК сукцинатдегидрогеназа относится к флавин-зависимым ферментам, поэтому она играет особую роль в энергетическом метаболизме при экстремальных состояниях, прежде всего таких, которые сопровождаются нарушениями на пиридиннуклеотидном участке дыхательной цепи. Например, сукцинатдегидрогеназная реакция может интенсифицироваться при облучении. При гипоксии, когда нарушается отношение между окисленными и восстановленными формами пиридиннуклеотидов и происходит накопление НАДН, возможно обращение конечных этапов ЦТК (от щавелевоуксусной кислоты до сукцината), окисление янтарной кислоты под действием сукцинатдегидрогеназы также приобретает большое значение для поддержания энергетического баланса ткани.

Из приведенных в настоящем разделе данных можно сделать вывод о следующих характерных для головного мозга особенностях в функционировании и регуляции ЦТК.

1. Активность ферментов (цитратсинтазы и НАД-изоцитратдегидрогеназы), катализирующих наиболее медленные этапы ЦТК, в мозгу значительно выше, чем в других тканях.
2. Доминирующим механизмом регуляции скорости окисления изоцитрата в митохондриях мозга является адениннуклео-



тидный контроль, что связано с преобладанием НАД-зависимого пути окисления этого субстрата.

3. В головном мозгу существует единый функциональный комплекс из двух ферментов — цитратсинтазы и НАД-изоцитратдегидрогеназы, обеспечивающий однонаправленное и синхронное изменение скорости наиболее медленных реакций ЦТК в зависимости от энергетических потребностей ткани, в первую очередь от соотношения компонентов адениннуклеотидной системы.

4. На этапе  $\alpha$ -кетоглутарат — сукцинат наряду с универсальной для всех тканей последовательностью реакций в мозгу возможно шунтирование (ГАМК-шунт) с образованием в качестве промежуточного продукта биологически активной  $\gamma$ -аминомасляной кислоты.

### 3.4. КОМПОНЕНТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИИ И ИХ СООТНОШЕНИЕ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ

Высокая интенсивность окислительного и энергетического обмена, большинство реакций которого локализуется в митохондриях, привлекает внимание исследователей к изучению особенностей формирования, структуры и соотношения основных компонентов этих субклеточных образований в головном мозгу. Созревание и окончательная дифференцировка головного мозга животных, как упоминалось выше, сопровождается значительной интенсификацией окислительных реакций, переходом на преимущественное использование в качестве энергетического субстрата глюкозы и повышением уровня энергетического обмена. Это проявляется в возрастании активности ферментов, лимитирующих скорость ЦТК, в первую очередь цитратсинтазы, НАД-изоцитратдегидрогеназы, а также активности пируватдегидрогеназы. Параллельно с этими изменениями в головном мозгу растущих животных происходит заметное

Таблица 15

Содержание основных компонентов дыхательной цепи митохондрий в головном мозгу взрослых и растущих кроликов, моль  $\cdot 10^{-10}$ /мг белка (Пигарева, 1972)

Возраст животных, дни	Митохондрии коры больших полушарий					Митохондрии ствола мозга				
	Флавопротениды	Цитохромы				Флавопротениды	Цитохромы			
		$c+c_1$	$b$	$a$	$a_3$		$c+c_1$	$b$	$a$	$a_3$
1	0,60	0,20	0,21	0,24	0,07	1,23	0,42	0,41	0,49	0,13
15	0,76	0,20	0,22	0,45	0,06	0,85	0,48	0,31	0,54	0,09
30	1,47	0,45	0,45	0,51	0,15	2,64	0,72	0,67	0,99	0,27
Половозрелые	1,81	0,67	0,64	0,78	0,20	2,48	0,90	0,90	1,23	0,27



(почти двукратное) возрастание числа митохондрий в расчете на клетку, и, следовательно, повышается содержание основных компонентов дыхательной цепи митохондрий — цитохромов и флавопротеидов (табл. 15).

Интересно, что возрастное накопление компонентов дыхательной цепи митохондрий мозга идет неравномерно. На примере анализа мозга крыс и кроликов рядом исследователей показано медленное нарастание уровня цитохромов в первые 15 дней постнатального развития и более интенсивное — в интервале между 15-м и 30-м днями; к концу последнего периода содержание основных переносчиков дыхательной цепи митохондрий близко к уровню, характерному для взрослых животных. Именно период развития 2—4 недели для крыс связан с интенсивной миелинизацией, завершением развития нейронов, с появлением электрической активности коры больших полушарий и двигательных реакций при электростимуляции мозга.

Одним из наиболее важных этапов в функционировании дыхательной цепи митохондрий является последняя стадия, т. е. передача электронов от цитохрома  $a_3$  на кислород. Как известно, это наиболее медленная реакция среди окислительно-восстановительных реакций цитохромов. Активность цитохромоксидазы, как и количество компонентов дыхательной цепи, в головном мозгу с возрастом увеличивается. Так, по данным З. Д. Пигаревой, в митохондриях коры больших полушарий новорожденных кроликов активность этого фермента составляет 187, а у взрослых — 361 мкл кислорода/ч в расчете на 1 мг белка. Сопоставление активности цитохромоксидазы в нейронах и нейроглии, проведенное рядом исследователей, показывает большую активность фермента в нейроглиальных клетках. Однако количественно эту разницу из-за сложностей методического характера и разных способов выделения нейрональных и нейроглиальных клеток, оценить пока трудно.

Последовательность компонентов дыхательной цепи митохондрий и характер их взаимодействия в митохондриях мозга не отличаются от такового в митохондриях любой другой ткани. Как известно, скорость окислительно-восстановительных превращений компонентов дыхательной цепи значительно превышает скорость реакций дегидрирования субстратов, поэтому именно дегидрогеназные реакции (в мозгу это в первую очередь дегидрогеназные реакции ЦТК) определяют в конечном счете интенсивность окисления энергетических субстратов тканью. Этим же объясняется, почему так важно значение величины отношения активности дегидрогеназ к содержанию основных компонентов дыхательной цепи для оценки интенсивности окислительных процессов в ткани. Установлено, что в тканях с высокой скоростью окисления (головной мозг, сердце, летательная мышца насекомых) величина отношения активности ферментов, лимитирующих ЦТК (цитратсинтаза и НАД-изоцитратдегидрогеназа), к со-



держанию цитохромов  $a + a_3$  или цитохрома  $c$  обычно превышает такую величину для тканей с относительно низкой интенсивностью окислительных процессов (печень и др.). Следовательно, существование подобного соотношения в митохондриях головного мозга можно рассматривать как структурную основу, обеспечивающую высокую интенсивность окислительного и энергетического обмена.

### 3.5. МАКРОЭРГИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ В МОЗГУ, ИНТЕНСИВНОСТЬ ИХ ОБРАЗОВАНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

#### Характеристика фонда макроэргических соединений мозга

Среди богатых энергией соединений в головном мозгу основная доля принадлежит компонентам адениннуклеотидной системы и креатинфосфату (Кр-Ф), в то время как трифосфаты гуанина, цитозина, уридина составляют менее 10% от суммы макроэргов (табл. 16). В целом соотношение адениновых нуклеотидов

Таблица 16

Содержание некоторых нуклеотидов, креатина и креатинфосфата в головном мозгу и печени крыс, мкмоль/г сырого веса (Вилкова, Ещенко, 1977; Poten e. a., 1973; Mendelson e. a., 1974 и др.)

Соединение	Головной мозг			Печень
	Средние данные	Кора больших полушарий	Мозжечок	
АТФ	2,30—2,90	2,08	2,60	2,40—2,80
АДФ	0,30—0,50	0,12	0,16	0,80—1,00
АМФ	0,03—0,05	0,02	—	0,15—0,30
Величина «энергетического заряда»	0,850—0,930	—	—	0,810—0,870
ГТФ	0,20—0,30	0,29	0,39	0,19—0,26
ГДФ	0,15—0,20	0,10	0,07	0,18—0,25
УТФ	0,17—0,25	0,22	0,19	0,19—0,25
Креатин	5,50—5,95	—	—	Следы
Креатинфосфат	3,50—4,75	—	—	Следы

в тканях мозга и печени примерно одинаково, при этом основной составляющей адениннуклеотидного пула является в обеих тканях АТФ. Однако содержание АДФ и особенно АМФ в мозгу значительно ниже, чем в печени. Распределение основных макроэргических соединений примерно одинаково во всех отделах мозга.

Особого внимания заслуживают полученные в последние годы данные о минорном компоненте адениннуклеотидной систе-



мы, а именно циклическом 3', 5'-АМФ. Установлено, что содержание этого биологически важного соединения, а также циклического 3', 5'-ГМФ в головном мозгу значительно выше, чем во многих других тканях. Уровень цАМФ в мозгу составляет в среднем 1—2, а цГМФ — до 0,2 нмоль/г; содержание цАМФ в печени в среднем 0,580, в почках 0,595, в селезенке около 0,600, характерна также и высокая активность ферментов метаболизма циклических нуклеотидов. Концентрация основной массы аденилатциклазы в синаптосомальных мембранах и очень высокая активность фермента указывают на специфическую роль циклических нуклеотидов в мозгу; большинство исследователей считают, что они участвуют в синаптической передаче (см. подробнее в гл. 8).

Важную роль в энергетическом метаболизме головного мозга играет система креатин — креатинфосфат. Высокое содержание креатина и его фосфорилированного производного, более чем в 2 раза превышающее сумму адениновых нуклеотидов, а также значительная активность креатинкиназы позволяют рассматривать креатин — креатинфосфат как мощную систему стабилизации уровня макроэргических компонентов адениннуклеотидного пула. Интересно отметить, что значительные запасы креатина и креатинфосфата и высокая активность креатинкиназы характерны также для постоянно работающей сердечной мышцы и для скелетных мышц, где креатинфосфат служит важным энергетическим источником при интенсивной мышечной деятельности.

Обращает на себя внимание тот факт, что в головном мозгу до 25—30% активности креатинкиназы связано с митохондриями. Фермент локализован на внешней митохондриальной мембране. Равновесие катализируемой им реакции сдвинуто в сторону образования креатинфосфата, в отличие от цитоплазматического фермента, который, напротив, катализирует преимущественно расщепление креатинфосфата и образование АТФ. Эти особенности дали основание предполагать, что вместе с АТФ — АДФ-транслоказой, находящейся на внутренней мембране митохондрий, креатинкиназа принимает участие в трансформациях макроэргических соединений, а также в переносе их из одного клеточного компартмента в другой.

### Способы оценки скорости энергетического метаболизма в мозгу

Для характеристики интенсивности обмена богатых энергией соединений в головном мозгу *in vivo* в настоящее время предложено несколько методических приемов. Один из них основан на определении скорости поглощения кислорода мозгом интактного животного и коэффициента окислительного фосфорилирова-



ния Р/О в экспериментах на митохондриальных препаратах. Известно, что для мозга взрослых животных характерно более тесное сопряжение процессов окисления и фосфорилирования; конечный коэффициент Р/О у них близок к 3,0, в то время как у новорожденных и в мозгу эмбрионов он гораздо ниже—1,5—1,8. Учитывая, что среднее значение скорости поглощения кислорода мозгом взрослых мышей составляет 4,6 мкмоль  $O_2$ /г/мин, можно рассчитать, что скорость образования и утилизации макроэргических фосфатов ( $\sim P$ ) составляет  $4,6 \cdot 2 \cdot 3,0 = 27,6$  мкмоль  $\sim P$ /г/мин.

Другой способ оценки интенсивности обмена макроэргических соединений в мозгу *in vivo* предложен в лаборатории Лоури. Для расчета используют следующие параметры: концентрацию АТФ, АДФ, Кр-Ф, глюкозы и интенсивность гликолиза, о которой судят по изменению молярного соотношения между лактатом и глюкозой. На группе тщательно стандартизированных животных проводят определения всей суммы показателей немедленно после декапитации животного (исходные значения показателей) и через 5—15 с. Предварительно было установлено, что в мозгу мелких лабораторных животных (мышей и крыс) в течение 10—20 с после декапитации сохраняются достаточные запасы кислорода и субстратов и что скорость образования и расхода макроэргических соединений практически не отличается от таковой в мозгу интактного животного. Расчет проводится по формуле.

$$\Delta \sim P = 2\Delta [АТФ] + \Delta [АДФ] + \Delta [Кр-Ф] + 2\Delta [глюкозы] + 1,45 (\Delta [лактата] - 2\Delta [глюкозы]).$$

В работах Лоури и соавторов, а также других исследователей, применявших подобный методический прием, приводятся такие величины интенсивности обмена макроэргических фосфатов (мкмоль  $\sim P$ /г ткани за 1 мин) в головном мозгу мышей:

1-дневные мыши . . . . .	1,33
7-дневные мыши . . . . .	2,58
Взрослые животные . . . . .	26,8

Обращает на себя внимание хорошее совпадение данных о скорости накопления и использования макроэргов в мозгу взрослых животных, которые получены принципиально различными методами и в разных лабораториях: 27,6 и 26,8 мкмоль богатых энергией фосфатов на 1 г мозга в минуту. Эти недавно появившиеся в литературе данные хорошо согласуются с ранее установленными фактами потребления головным мозгом значительных количеств кислорода и глюкозы и являются количественным доказательством необычайно высокой интенсивности энергетического обмена в мозгу.

Анализируя приведенные выше результаты Лоури и соавторов, необходимо обратить особое внимание на резкое (более чем 20-кратное) увеличение интенсивности обмена богатых энергией соединений в головном мозгу с возрастом. Это согласуется с



уже отмечавшимся ранее повышением скорости дыхания мозговых препаратов, поглощения кислорода целым мозгом интактного животного, а также с нарастанием активности многих ферментов окислительного обмена. Здесь уместно привести и данные о возрастных изменениях активности важнейшего фермента, утилизирующего АТФ: активность  $K^+$ ,  $Na^+$ -активируемой АТФазы, по данным многих исследователей, увеличивается в мозгу в течение первых трех недель жизни в 3—4 раза. Аналогичные наблюдения сделаны и с помощью радиоактивного изотопа  $^{32}P$ . Например, установлено, что интенсивность обновления терминальных фосфатных группировок АТФ и АДФ с возрастом увеличивается, причем особенно заметно это увеличение в мозгу растущих животных в первые 1—2 недели постэмбрионального развития.

Однако, несмотря на заметное повышение интенсивности энергетического обмена, в головном мозгу животных с возрастом сумма основных макроэргических соединений (АТФ + АДФ + Кр-Ф) изменяется весьма незначительно. Например, по данным Манделя и соавторов, суммарное содержание АТФ и АДФ в головном мозгу новорожденных (1-дневных) крыс составляет в среднем 2,01, а у взрослых животных — 2,14 мкмоль/г. Также весьма незначительно изменяется с возрастом и содержание в головном мозгу животных креатинфосфата: у 1—2-дневных крыс оно в среднем равно 3,0, а у взрослых — 3,3 мкмоль/г. Другими словами, процессы биосинтеза и утилизации богатых энергией соединений в мозгу животных разных возрастных групп хорошо сбалансированы. По мере формирования и усложнения структурных комплексов в головном мозгу и повышения их функциональной активности возрастает и интенсивность окислительного и энергетического обмена. Нейрофизиологами установлено, что энергия одного нервного импульса у взрослых животных гораздо выше, чем у новорожденных.

Таким образом, совокупность приведенных данных свидетельствует о существовании тесной положительной корреляции между интенсивностью энергетического обмена и развитием головного мозга, его функциональным созреванием, формированием синаптических структур, его физиологической активностью.

### Энергообеспечение специфических для головного мозга процессов

В настоящее время уже не вызывает сомнения, что функциональная деятельность головного мозга сопровождается расходом значительных количеств богатых энергией соединений. Наглядным примером служат эксперименты, проведенные Мак-Ильвейном и соавторами. В опытах на срезах коры больших полушарий они убедительно показали, что наиболее адекватное воздействие — электрическое раздражение — приводит к резкому



падению содержания АТФ. Несколько отстает по времени значительное снижение содержания в срезах мозга Кр-Ф. (рис. 7). Сопоставление характера изменений уровня двух важнейших макроэргических соединений во времени указывает на роль системы креатин — креатинфосфат в стабилизации уровня АТФ.

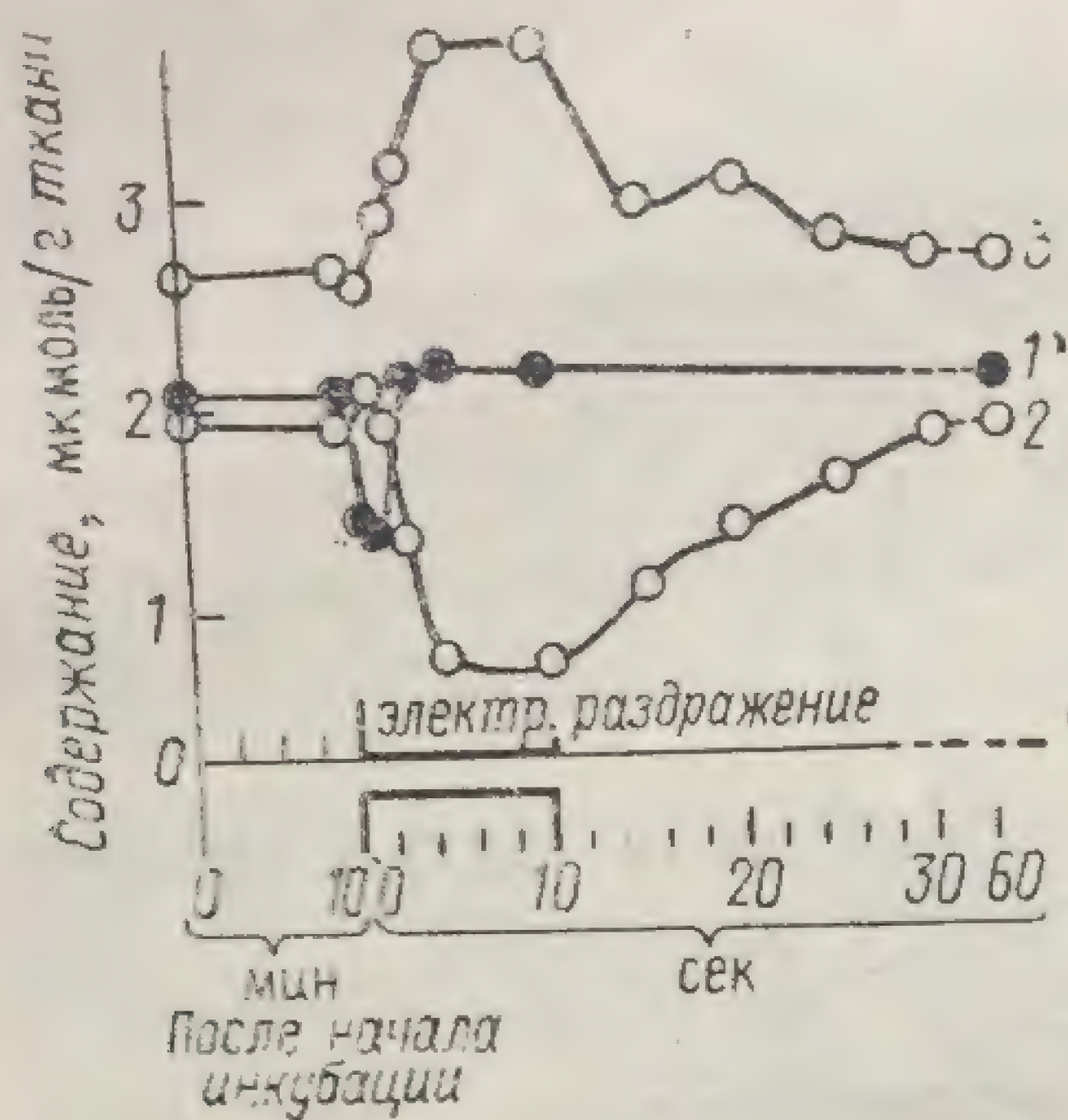


Рис. 7. Изменение содержания АТФ (1), креатинфосфата (2) и неорганического фосфата (3) в срезах коры больших полушарий головного мозга крыс при электрическом раздражении (Мак-Ильвейн, 1962).

Параллельно с уменьшением запасов богатых энергией соединений в срезах мозга при электрическом раздражении происходит накопление неорганического фосфата.

Доказательством того, что электрическое раздражение срезов головного мозга имитирует функциональную активность нервной ткани, является совпадение скорости поглощения кислорода, обнаруженное в таких опытах *in vitro*, с результатами анализа дыхания мозга интактного животного.

В последние годы благодаря усовершенствованию методических приемов выводы Мак-Ильвейна и соавторов о соотношении между расходом АТФ и Кр-Ф и изменением функционального состояния нервной системы подтвержде-

ны в опытах на мозге интактных животных. Показано заметное ускорение расходования АТФ и Кр-Ф при возбуждении (условно-рефлекторном или вызванном фармакологическими препаратами) и, напротив, замедление использования этих соединений при торможении или наркозе. Причем установлено, что при усилении энергозатрат в мозгу, вызванном судорогами при электрошоке, сначала уменьшается уровень таких «запасных» энергетических субстратов, как креатинфосфат и гликоген мозга, и лишь после исчерпания этих источников начинает быстро уменьшаться содержание АТФ. В период восстановления АТФ в первую очередь возвращается к исходным значениям, а позже нормализуется содержание Кр-Ф и гликогена.

Необходимо подчеркнуть, что подобные исследования дают представление лишь об итоговых, балансовых изменениях важнейших компонентов энергетического обмена, оставляя по-прежнему неясными количественные соотношения между энергозатратами на специфические, присущие только нервной ткани процессы, которые изменяются при изменении функционального состояния. Неясно также, какие биохимические реакции лежат в основе тесной зависимости между функциональной активностью нервной ткани и интенсивностью энергетического обмена. К сожалению, в настоящее время нет еще исчерпывающих ответов



на эти кардинальные вопросы нейрохимии; многие стороны этой важной проблемы нуждаются в уточнениях и дальнейших углубленных исследованиях. Поэтому специфические энергозависимые процессы, характерные для нервной ткани, можно описать здесь в самых общих чертах, приводя лишь косвенные данные. Для наглядности они суммированы в табл. 17.

Таблица 17

**Некоторые специфические функции нервной ткани, требующие энергетических затрат**

Функция	Биохимическая реакция
1. Проведение нервных импульсов с последующим восстановлением ионной асимметрии	$K^+$ , $Na^+$ -АТФазная реакция
2. Поддержание определенной пространственной ориентации и конформации структурных единиц нейрона	Фосфорилирование специфических белков нейрофиламентов и другие реакции
3. Образование синаптических структур	Синтез специфических белков, липо- и гликопротеидных комплексов; синтез нейромедиаторов
4. Хранение и переработка информации (нейрологическая память)	Синтез специфических белков, пептидов, нуклеиновых кислот, липо- и гликопротеидных комплексов
5. Трансмембранный перенос субстратов, метаболитов, медиаторов	Реакции, катализируемые АТФазными системами; транслокационные реакции
6. Аксональный и ретроградный ток	Фосфорилирование специфических белков (тубулина и др.)

Одной из основных функций нервной ткани является передача нервных импульсов от одного нейрона к другому, от периферических клеток в центральные отделы нервной системы и обратно. Как известно, необходимым условием прохождения импульсов по нервному волокну служит неравномерное распределение ионов натрия и калия по разным сторонам клеточной мембраны. Поддержание ионной асимметрии, восстановление ее после прохождения нервного импульса связано со значительными энергетическими затратами. В первую очередь это относится к транспорту ионов натрия против градиента концентрации в момент перехода потенциала действия в потенциал покоя, т. е. в восстановительный период. Доказательством этому служат результаты исследований, в которых использовалась микроэлектродная техника для внутриклеточных инъекций метаболических ингибиторов (оубаина и др.) и макроэргических соединений. С помощью такого методического приема удалось показать существование тесной связи между трансмембранным переносом ионов натрия и калия и процессами гидролиза АТФ в нервных клетках. Особое внимание в этой связи нейрохимии



уделяют изучению  $K^+$ ,  $Na^+$ -стимулируемой  $Mg^{2+}$ -зависимой АТФазы, поскольку активность этого фермента в головном мозгу заметно выше, чем во многих других тканях. Активность  $K^+$ ,  $Na^+$ -АТФазы в разных отделах мозга неодинакова: максимальная активность фермента обнаружена в коре больших полушарий, меньшая — в коре мозжечка и в таламусе, еще меньшая — в экстрапирамидальных ядрах. Белое вещество имеет очень низкую активность фермента.

Сопоставление средней частоты прохождения нервных импульсов и объема, требующегося для обеспечения импульсации трансмембранного переноса ионов натрия и калия со скоростью синтеза макроэргических соединений, дает возможность приблизительно оценить затраты энергии на осуществление этой специфической функции нервной ткани. По расчетам М. И. Прохоровой и других авторов при стационарном состоянии нервной ткани («относительный покой») эти затраты невелики — они составляют около 10—15% от общего количества АТФ, образующегося за единицу времени. Однако при изменении функционального состояния, особенно при длительном и стойком возбуждении, каким является доминантное состояние нервных центров, количество энергии, необходимое для восстановления ионной асимметрии, значительно возрастает. В то же время поступление кислорода и окисляемых субстратов и, следовательно, образование макроэргических соединений может увеличиваться незначительно, а иногда (особенно при патологии) и заметно уменьшаться. В таких случаях интенсивность энергетического обмена становится лимитирующим фактором в поддержании функционального состояния нейронов мозга.

Интересные наблюдения, сделанные А. Б. Коганом и соавторами на одиночном механорецепторном нейроне рака, показали, что возбуждение и торможение нейрона сопровождается выраженными сдвигами в энергетическом и пластическом обмене и изменением локализации отдельных внутриклеточных структур. Причем, если в ходе генерации импульсов энергетические затраты нейрона относительно невелики, то они очень резко увеличиваются в период перехода к другому функциональному состоянию, например при переходе от относительного покоя к возбуждению, смене возбуждения торможением и т. д. В этот относительно кратковременный период (5—10 мин) значительно увеличивается напряжение кислорода над поверхностью сомы нейрона, возрастает активность дыхательных ферментов (сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы), повышается скорость образования АТФ и активность АТФазы. Затем происходит агрегация митохондрий в соме нейрона, приводящая к постепенному снижению интенсивности энергетического обмена и переходу клетки к длительному функционированию на новом стабильном уровне с минимальными (но большими, чем в период относительного покоя) энергозатратами. Торможение нейрона харак-



теризуется более быстрой и интенсивной активацией энергетического обмена по сравнению с возбуждением. Основные структурно-метаболические перестройки и значительное усиление энергозатрат связаны непосредственно с изменением функциональной активности, т. е. режима работы нейрона, а не только с генерацией импульсов и, следовательно, отражают еще одну сторону специфической активности нервной клетки — ее интегративную функцию.

Оценивая использование макроэргических соединений при осуществлении специфических для нервной ткани функций, нельзя не остановиться на энергообеспечении процессов хранения и переработки информации, поступающей в головной мозг. Несмотря на свою исключительную важность, до сих пор проблема памяти содержит множество загадок и «белых пятен». Тем не менее в последние годы все большее внимание исследователей привлекает иммунохимическая теория памяти (подробнее этот вопрос рассматривается в гл. 9). Синтез специфических белков и пептидов-модуляторов, пептидов-коннекторов, а также компонентов специфичных липопротеидных и гликолипопротеидных комплексов, участвующих в реализации отдельных этапов хранения и переработки информации, является процессом энергозависимым. Известно, что интенсивность синтеза ряда белков и пептидов в головном мозгу во много раз превышает скорость биосинтеза белков во многих других тканях (см. гл. 6). Чем интенсивнее протекают в том или ином образовании мозга процессы переработки и запоминания поступающей информации, тем выше потребность в богатых энергией соединениях, а также в субстратах для синтетических реакций.

Еще одним важным обстоятельством, накладывающим определенный отпечаток не только на энергетический обмен, но и на многие другие стороны метаболизма нервной ткани, является совершенно необычное для большинства других типов клеток соотношение между поверхностью и объемом центральной части клетки. Например, для мотонейронов коры кошки средние размеры тела клетки составляют около 50 мкм, в то время как длина аксона — до  $10^4$ — $10^6$  мкм. Подобные особенности структуры клеток нервной системы объясняют причины отмеченных многими исследователями значительных энергетических затрат на транспортные нужды клетки. В первую очередь необходимо упомянуть трансмембранный перенос субстратов, медиаторов, различных предшественников под действием специфических транслоказ или в результате конформационных перестроек клеточной мембраны. Например, установлено, что на долю пассивной диффузии такого важного энергетического субстрата, как глюкоза, приходится не более 5%, подавляющая масса ее переносится через гемато-энцефалический барьер со значительными затратами энергии и с участием  $K^+$ ,  $Na^+$ -АТФазы.

Наконец, совершенно особую, специфическую, не встречаю-



щуюся в других тканях «статью расхода» в головном мозгу составляют энергозатраты на осуществление аксонального и ретроградного транспорта (см. подробнее гл. 6).

В литературе имеются лишь единичные работы о влиянии функциональной активности нейрона на скорость аксоплазматического тока. Методом автордиографии удалось продемонстрировать значительное ускорение переноса глутамата, РНК и белка при электростимуляции. Механизмы, обеспечивающие аксоплазматический ток, не вполне ясны. Киносъемка культуры чувствительных нервов вместе с ганглиями позволила обнаружить перистальтические волны, распространяющиеся по поверхности нервного волокна. Предполагается, что в их возникновении определенную роль играют нейротубулин с участием специфических сократительных белков (тубулина и др.). Известно, что обязательным условием функционирования этих белков являются конформационные перестройки после присоединения ГТФ, а также процессы фосфорилирования (с затратой АТФ или других макроэргов) под действием «специфической  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой, цАМФ-активируемой протеинкиназной системы. Учитывая весьма значительные размеры, протяженность аксонов, и скорость аксонального транспорта, можно прийти к заключению, что осуществление этой специфической функции в нервной клетке требует определенных расходов богатых энергией соединений.

Однако, судя по литературным данным, значительно большие энергетические затраты требуются для поддержания определенного конформационного состояния белков нейрофиламентов — других важнейших структурных образований нейрональных отростков. Конформационные переходы их также осуществляются за счет реакций фосфорилирования-дефосфорилирования. Преимущественная локализация нейрофиламентов в осевом цилиндре аксонов и дендритов обеспечивает определенное физико-химическое состояние всей структуры. Нейрофиламенты, как закрученные пружины, поддерживают определенную пространственную ориентацию нейрональных отростков — аксона и дендритов. Последнее обстоятельство имеет необычайную важность для осуществления нейрональных контактов, для организации функциональных ансамблей нейронов, т. е. для осуществления интегративной деятельности нервной ткани.

Приведенное здесь краткое перечисление ряда специфических для нервной ткани процессов позволяет понять причины, лежащие как в основе постоянно высокого уровня энергетического обмена, характерного для головного мозга, так и в основе тесной зависимости между функциональной активностью мозга и интенсивностью энергетического обмена.

ЛИ  
Соста  
липиды  
активнос  
ловина с  
жит уник  
которые  
мальных  
адипозно  
Липид  
остается  
факторов  
но резко  
мы. Изме  
считыват  
нить, что  
системы п  
Липид  
нальными  
вся слож  
через мем  
синаптиче  
процессы  
нейрональ

4.1. Л

Нервна  
ских мемб  
нелл нерв  
банные ме  
лярных н



## Глава 4

### ЛИПИДЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Составляя структурные составные части нервной системы, липиды являются важнейшими участниками ее функциональной активности. Мозг особенно богат липидами, приблизительно половина сухого веса мозга приходится на липиды. Мозг содержит уникальные мембранные структуры — миелиновые оболочки, которые имеют самое высокое содержание липидов среди нормальных тканей или субклеточных компонентов, за исключением адипозной ткани.

Липидный состав нервной ткани практически постоянен и остается неизменным даже под влиянием различных внешних факторов, таких как диета, стрессовые состояния, которые обычно резко меняют липидный состав висцеральных органов и плазмы. Изменение липидного состава нервной ткани можно рассматривать поэтому как патологию, но при этом следует помнить, что существенные изменения в липидном составе нервной системы происходят в развитии.

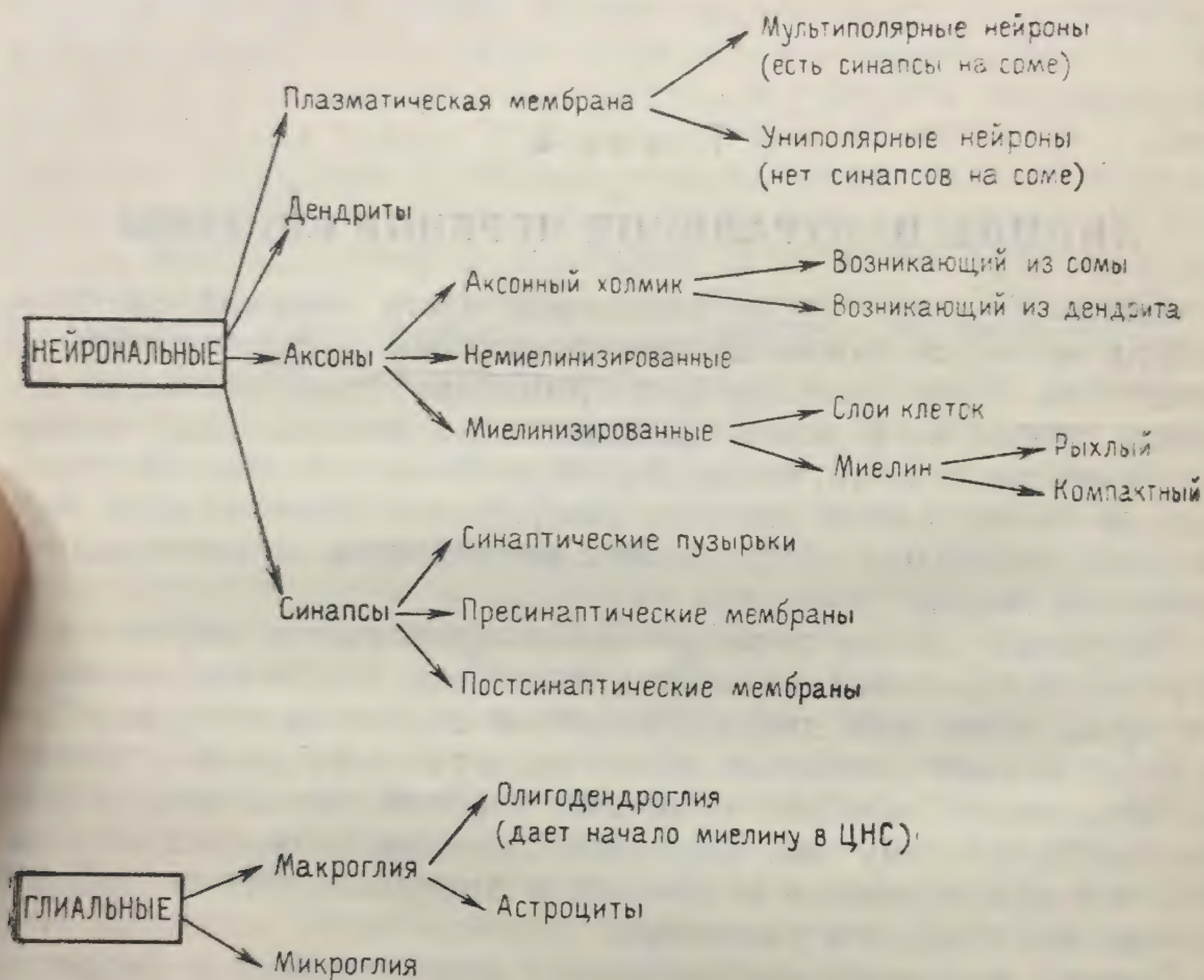
Липиды являются необходимыми структурными и функциональными компонентами мембран, и считается доказанным, что вся сложнейшая деятельность нервной системы опосредуется через мембраны. Такие явления, как нейрональное возбуждение, синаптическая передача, пластичность синаптических связей, процессы обучения, память, запускаются мембранами мозга, нейрональными и глиальными.

#### 4.1. ЛИПИДЫ — КОМПОНЕНТЫ НЕЙРОНАЛЬНЫХ МЕМБРАН

Нервная система обладает несколькими типами биологических мембран. Так, кроме мембран обычных клеточных организмов нервная система имеет различные высокоспециализированные мембраны: соматические мембраны мульти- и униполярных нейронов мембраны дендритов; миелинизированных



и немиелинизированных аксонов, аксонного холмика, где генерируется потенциал действия, рыхлого и компактного миелина; мембраны синаптических пузырьков, пре- и постсинаптические мембраны; глиальные мембраны (макро- и микроглии). Среди этих мембран найдены все переходы от высоковозбудимых (синаптические, аксонного холмика) до относительно устойчивых мультимембранных структур миелина. Все типы мембран нервной системы можно представить следующей схемой (Johnston, Roots, 1972):



Липиды не являются индифферентными структурными компонентами мембран. В силу своей мембранности и по ряду физико-химических свойств они являются обязательными участниками функциональной активности любой мембраны. Следующие свойства липидов определяют их мембранность:

1. Сочетание гидрофильных и липофильных свойств в одной молекуле.

2. Способность липидов так ориентироваться на границе раздела фаз, что полярные концы направлены в одну сторону, неполярные — в другую.

3. Способность липидов упаковываться в прочные, плотные мономолекулярные слои или пленки, устойчивые к сжатию. Плотность такой упаковки зависит от pH среды, температуры и



молекулярной организации липидов. Такие плотные слои создают определенный барьер для диффузии молекул.

4. Способность липидов агрегировать в хорошо упорядоченные сферические, цилиндрические, ламеллярные мицеллы

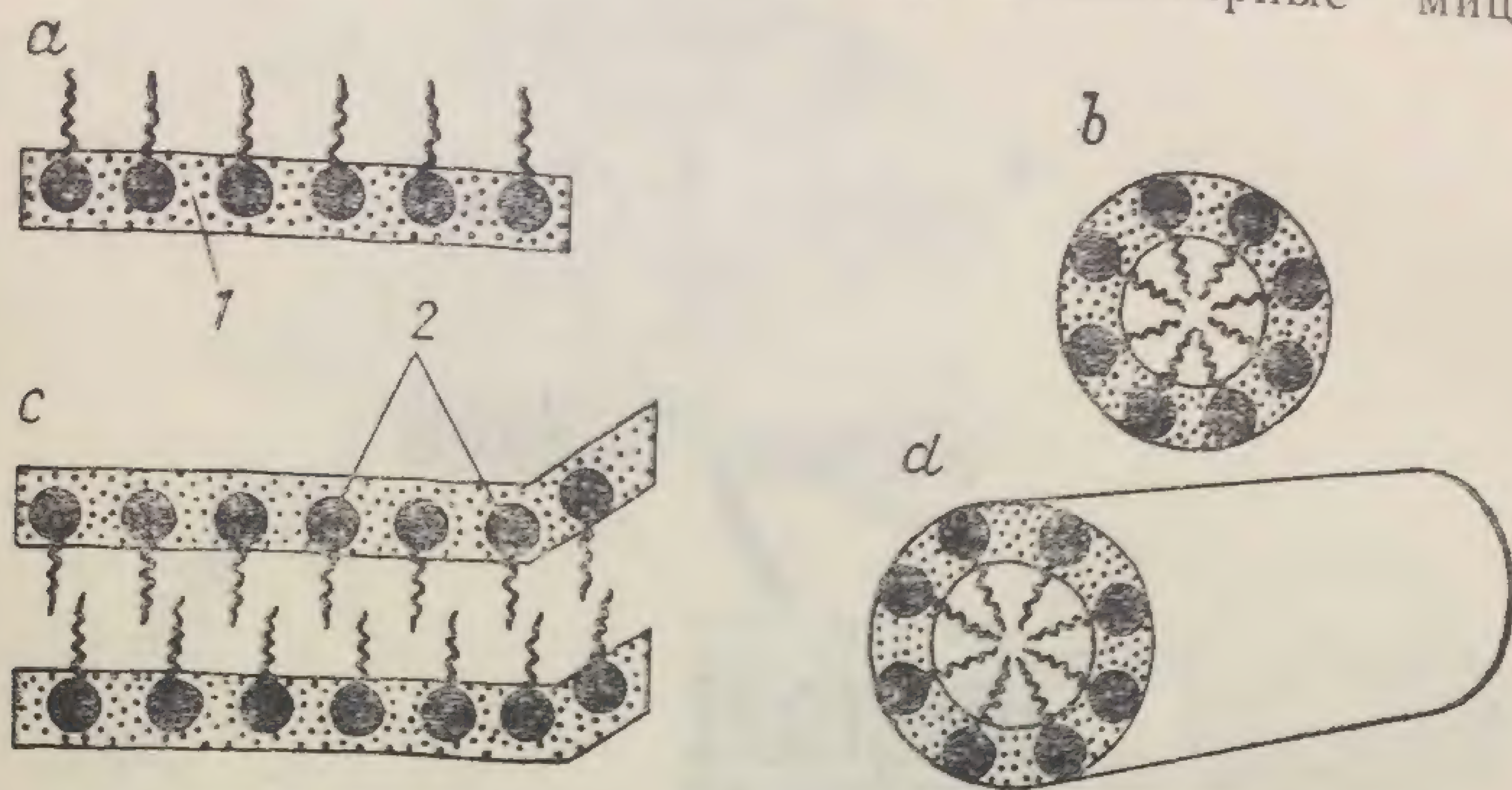


Рис. 8. Типы липидных мицелл (Johnston, Roots, 1972)  
1 — вода; 2 — полярные группы липидов; а — монослой, б — сферическая, с — ламеллярная д — цилиндрическая мицеллы.

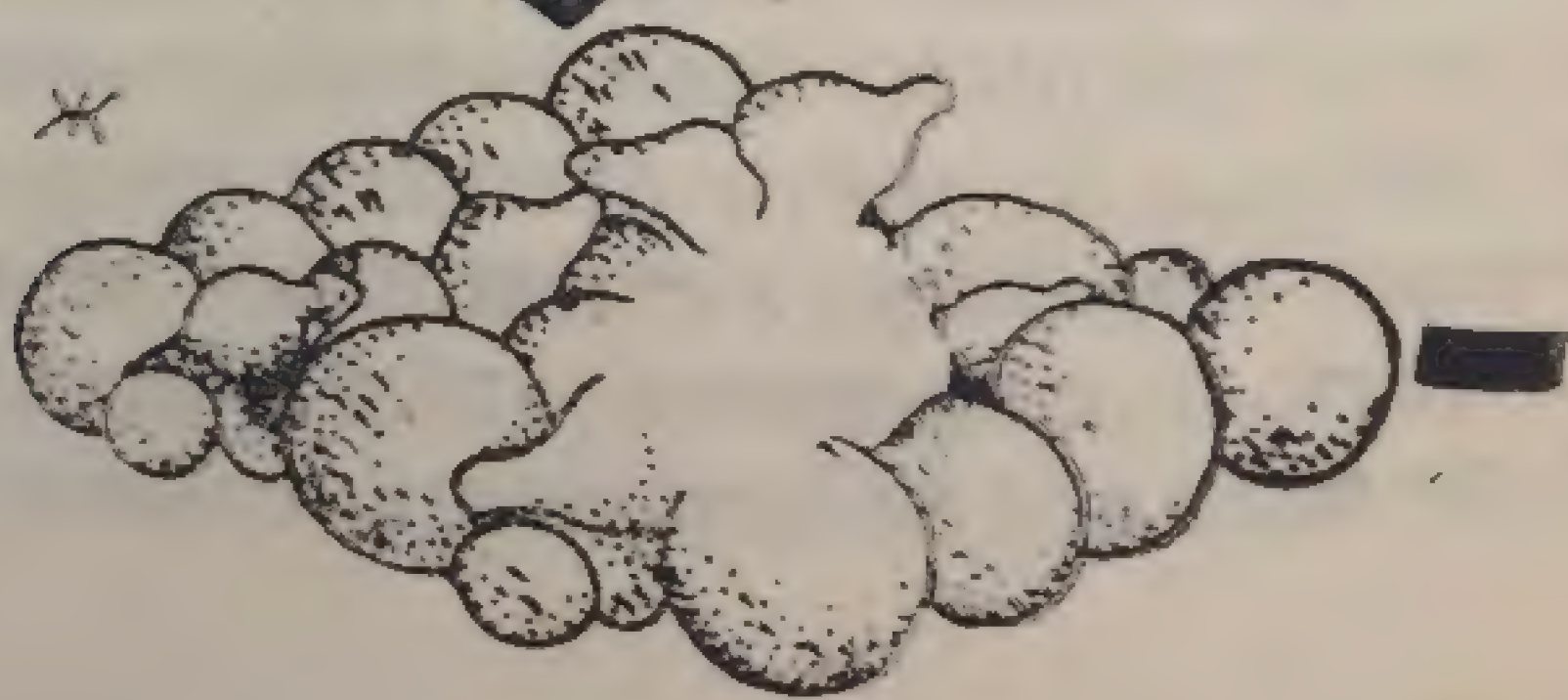
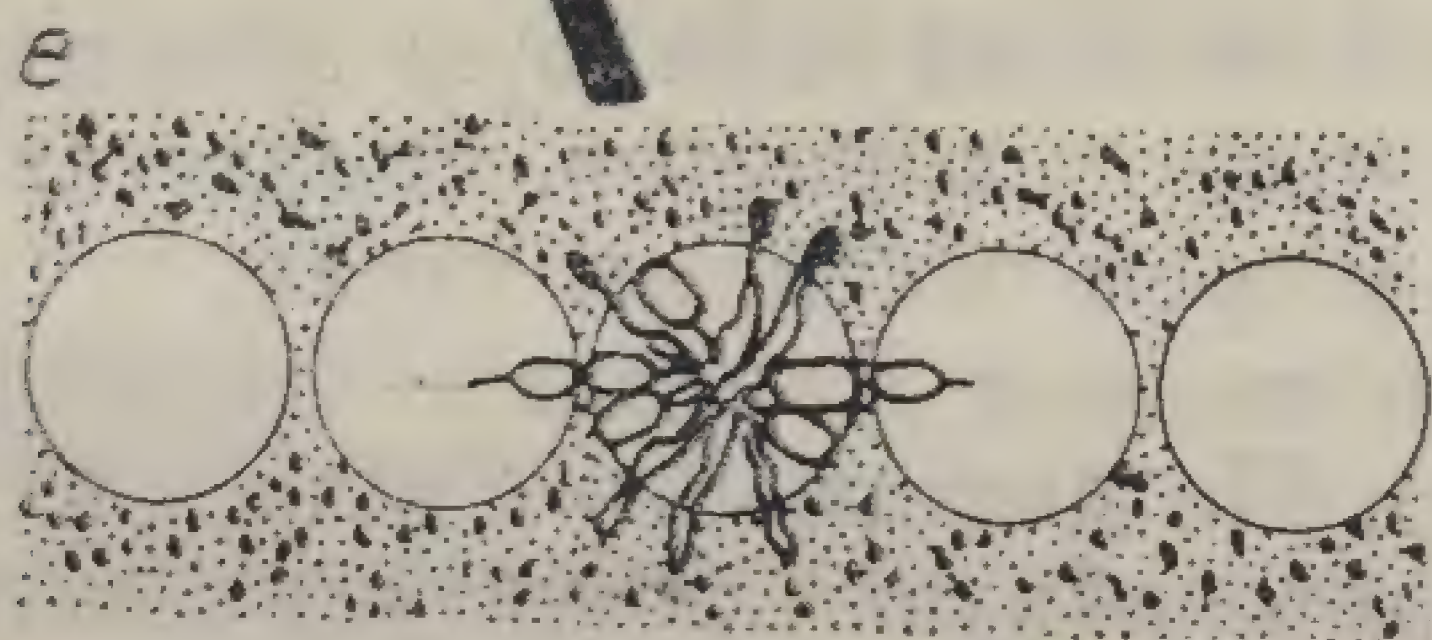
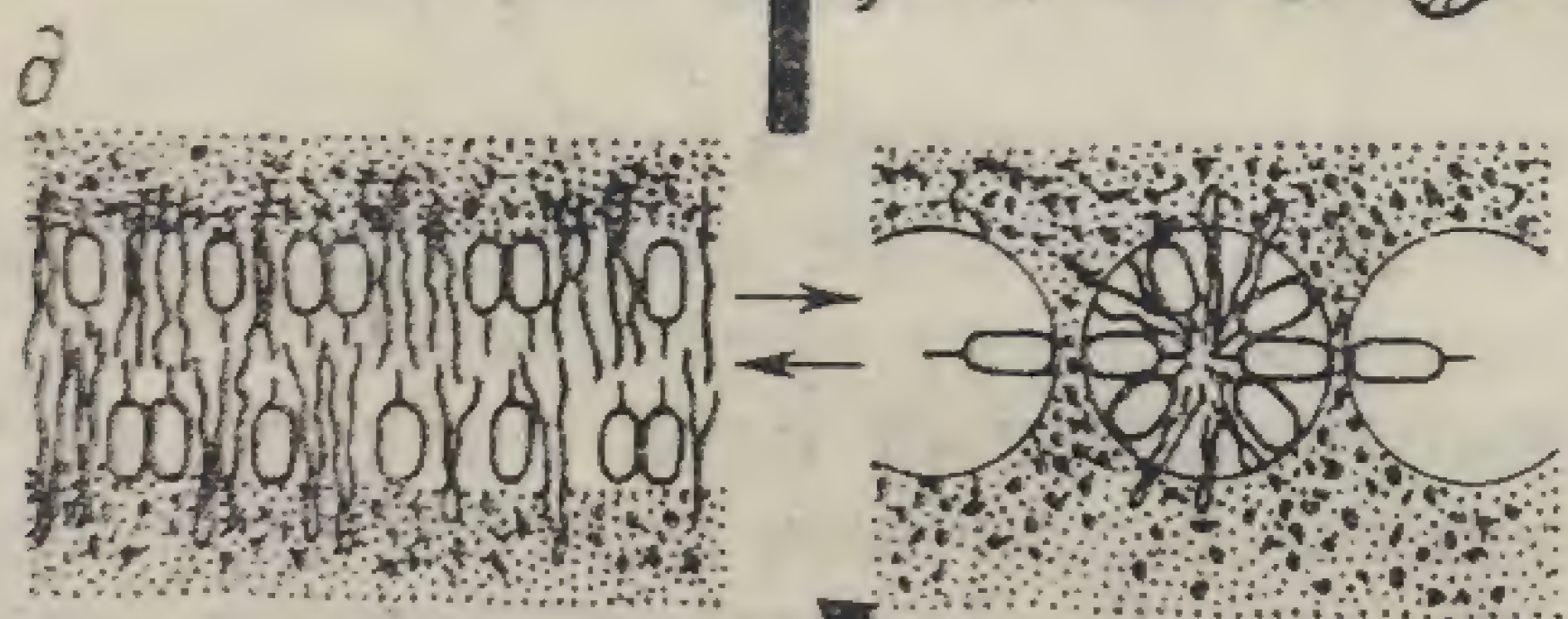
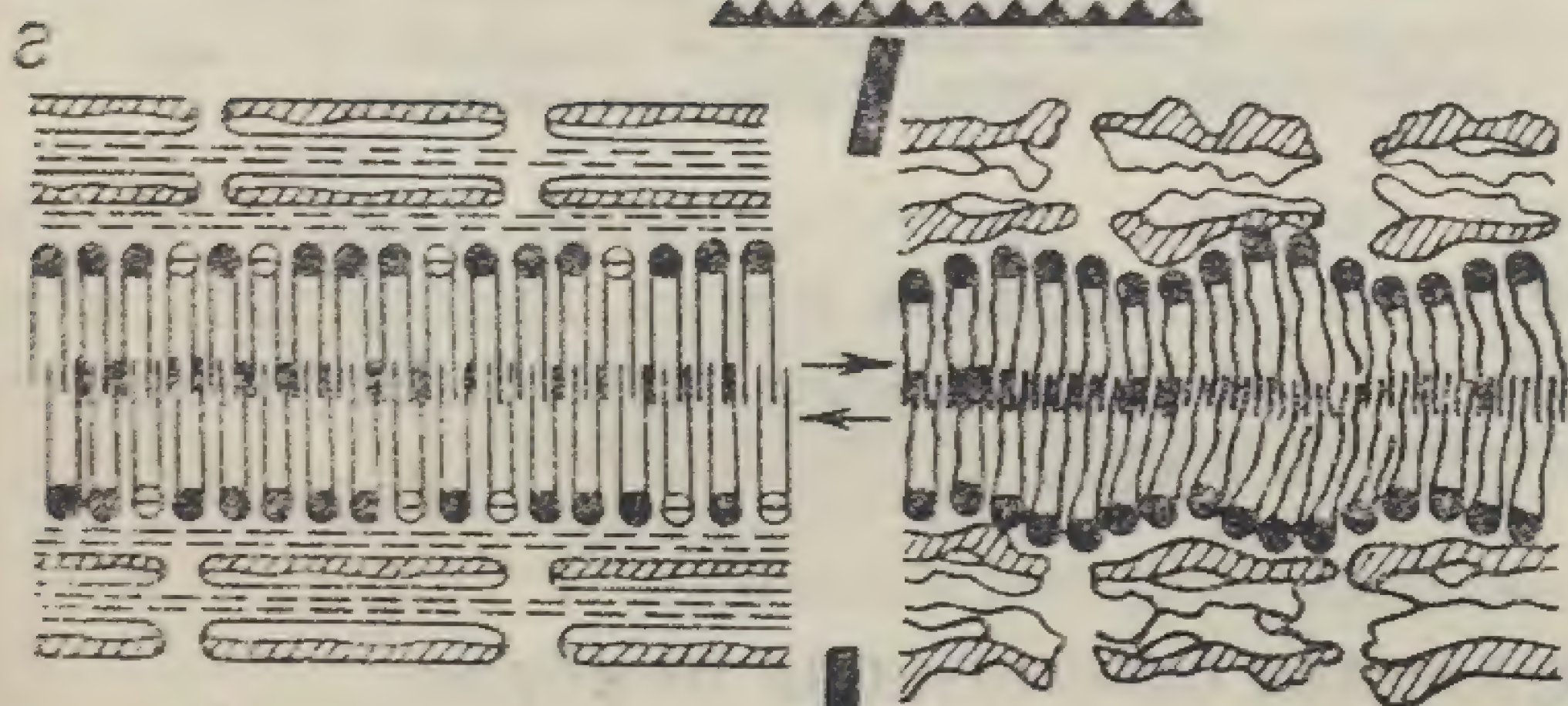
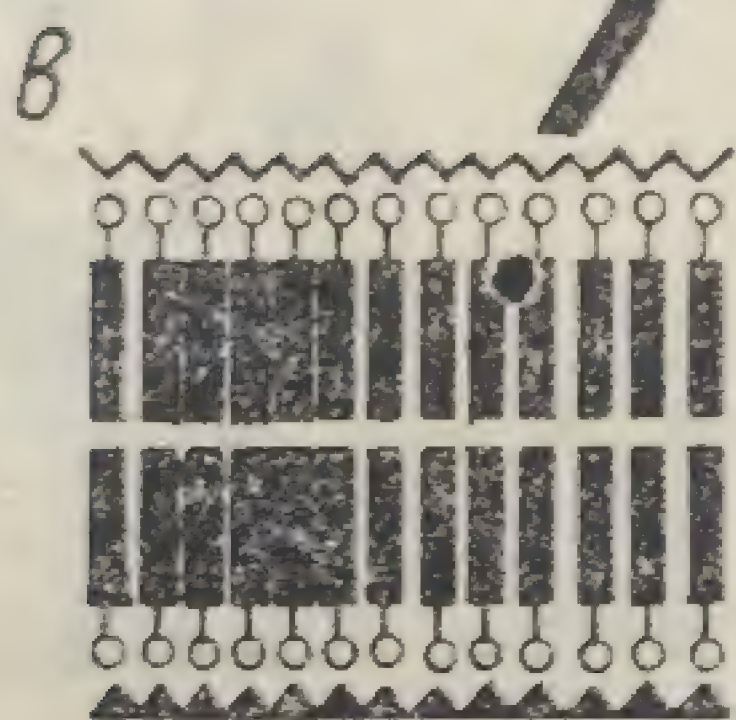
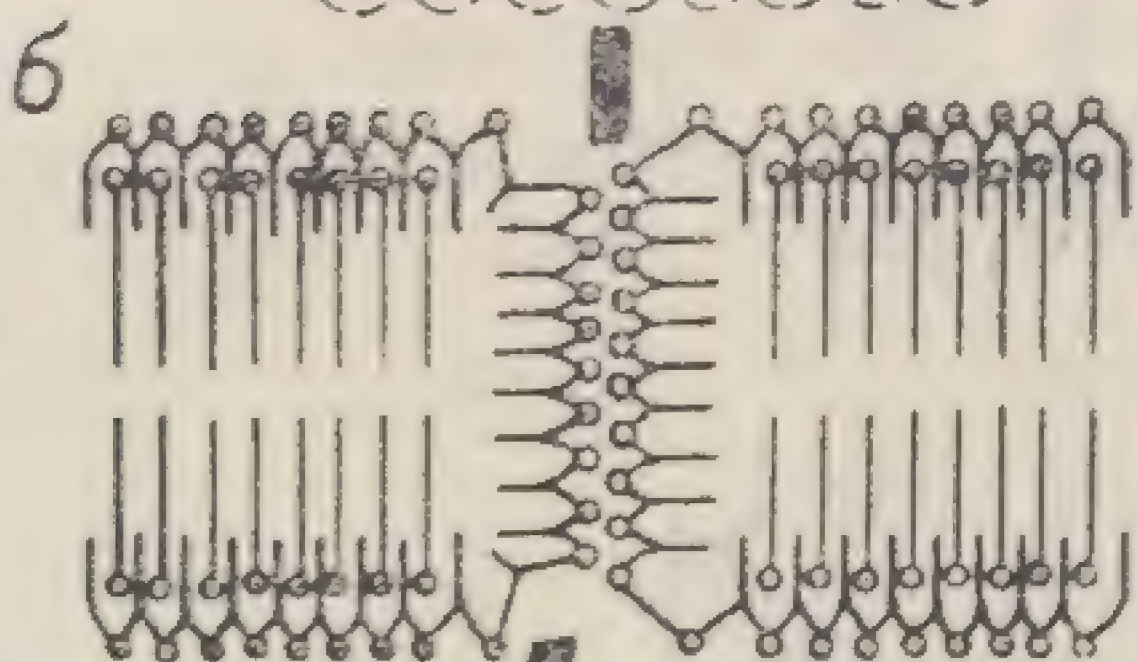
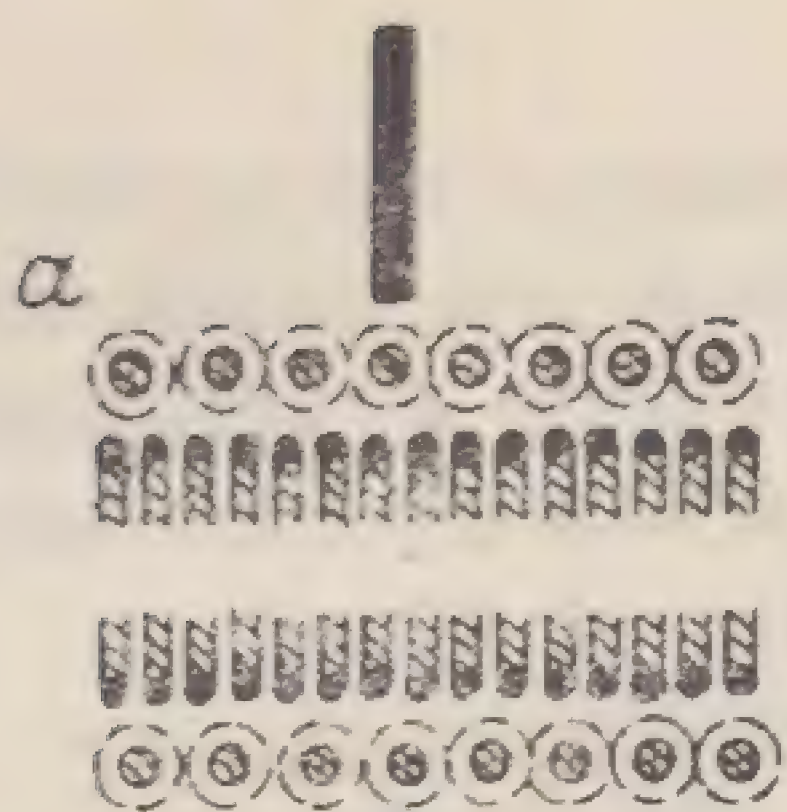
(рис. 8). В мицеллах липиды располагаются таким образом, чтобы максимальное число полярных групп находилось в контакте с водной фазой, а углеводородные цепи были максимально защищены от контакта с водой.

### Молекулярная организация мембран

В основе молекулярной организации мембран лежит способность липидов образовывать прочные мономолекулярные слои. Почти 50 лет назад было высказано предположение, что в основе мембран лежит бимолекулярный слой липидов. С тех пор было предложено множество различных моделей структуры мембраны, что отражено на рис. 9. Все предложенные модели представляют неоспоримой белково-липидную природу мембран. Несмотря на большое число вариантов, представленные модели могут быть сведены к трем основным типам.

Первый тип — это модели Даусона — Даниелли и Робертсона (см. рис. 9, а, б, в). По данным этих авторов, мембрана представляет собой трехслойную структуру белок-липид-белок («сэндвич»). Находящийся в центре липидный слой является бимолекулярным слоем, наружная и внутренняя поверхности которого покрыты мономолекулярным слоем белка. Гидрофобные цепочки молекул липидов направлены друг к другу, а гидрофильные — к белку, с которым они электростатически связаны. Последующая критика этих моделей основывалась на том, что эти модели обладают жесткостью и несжимаемостью и молекулы







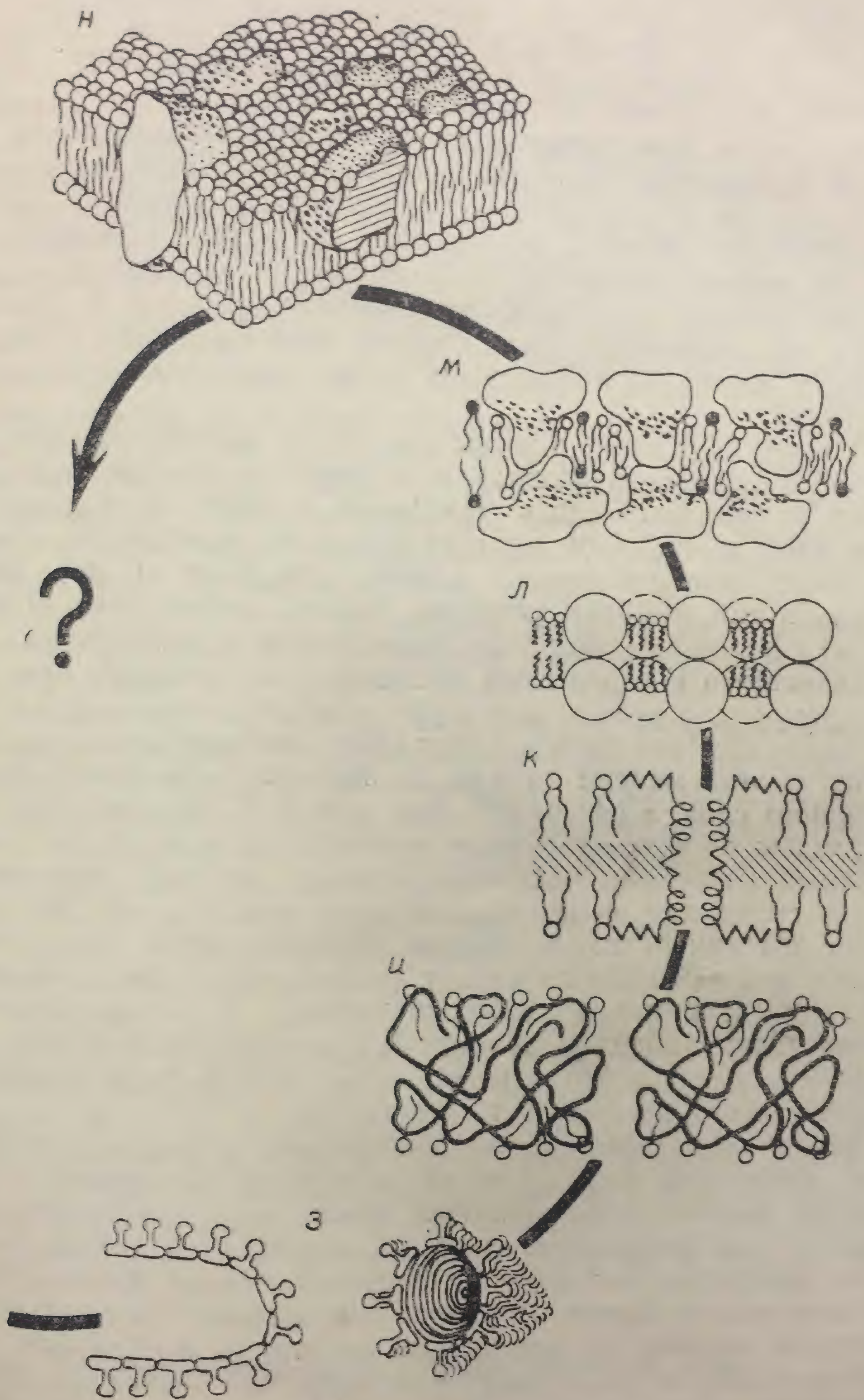


Рис. 9. Различные модели структуры мембраны (Finean, 1972).  
(Пояснения к рисунку в тексте.)



липидов находятся в контакте с водой. Кроме того, трудно представить, как такой равномерно тонкий слой белка в 20 А, находящийся в основном в распрямленной  $\beta$ -конформации, включает в себе присущие мембране регуляторные, каталитические и структурные белки с молекулярным весом 15000—100000. Поэтому ряд авторов попытались в эти модели внести элемент динамичности. Они предположили, что при деполяризации мембраны белковые компоненты принимают более глобулярную форму, а липиды теряют свою упорядоченность (рис. 9, г). Модель, предложенная позднее, не отвергая структуры «сэндвича», предлагала двойной липидный слой способностью перехода «ламеллярная мицелла — глобулярная мицелла» (рис. 9, д, е). На основании этих положений была внесена идея фазовости конформационных изменений липидов как основы различных мембранных состояний.

В конце 60-х годов электронно-микроскопические и биохимические исследования позволили обнаружить прерывистость белковых и липидных слоев мембраны, и была сформулирована идея иной мембранной архитектуры — не «сэндвича», а повторяющихся липопротеиновых единиц (рис. 9, ж, з). Этот второй основной тип мембран устранил дефект предыдущих моделей: они не учитывали неполярное гидрофобное взаимодействие между белковыми и липидными компонентами, которому принадлежит решающая роль в структуре мембран, поскольку внутренняя часть мембран представляет собой совершенно гидрофобную среду. В этой модели липиды не образуют сплошного бимолекулярного слоя, а рассредоточены между белковыми глобулами так, чтобы их углеводородные группы были в контакте с гидрофобными участками белковых молекул, занимая пространство между складками полипептидной цепи (рис. 9, и, к). При таком проникновении белков в липиды предполагается, что углеводородные цепочки жирных кислот липидов могут быть специфически комплементарны аминокислотным последовательностям белков. Таким образом, генетически контролируемая последовательность аминокислот в мембранных белках будет определять специфическую ассоциацию с липидами.

Вслед за подтверждением положения о том, что липидные слои пронизаны белком, была выдвинута мозаичная модель, которая явилась компромиссом между моделью «сэндвича» и моделью повторяющихся единиц. Согласно этой модели (рис. 9, л, м) мембраны построены из липопротеиновых протомеров, эквивалентных по форме и размеру и способных соединяться друг с другом, причем эти ассоциации спонтанны и обратимы. Каждый протомер включает одну или несколько пептидных цепочек, связанных с липидами, и имеет дифференцированные области, через которые связывается с близлежащими протомерами как гетерологично, так и изологично. Мозаичная модель учитывает разнообразие белково-липидных взаимодействий и модифика-

цию дво  
макромо  
липоидов,  
цы имеют  
моделей

Синте  
ную мо  
ными ф  
ный бел  
глобуля  
ны в в  
гральны  
липидно  
белковы

родные  
лотных  
часть м  
пидов и  
преиму  
браны.

инов и  
верхнос  
торые и  
связанн

вать м  
белки а  
ящие и  
узкие п

Теку  
фологи  
перемен  
ской в  
гут вст  
свойств

Одн  
чает вс  
ческих  
функци  
принци  
ность.

Мо  
слой п  
дов в  
бран в

6 Зак. 57



цию двойного липидного слоя. При высокой упорядоченности макромолекулярных единиц она допускает обратимые конформационные изменения как белков, так и углеводородных цепочек липидов, и, кроме того, обязывает макромолекулярные единицы иметь регуляторные участки для стереоспецифического взаимодействия.

Сингер и Никольсон в 1972 г. предложили жидкую мозаичную модель мембраны, которая была подкреплена многочисленными физико-химическими данными. В этой модели мембранный белок представляет собой набор различных гетерогенных глобулярных молекул, которые частично или полностью внедрены в вязкий прерывистый двойной липидный матрикс. Интегральные глобулярные белки как бы «плавают» в этом вязком липидном матриксе (рис. 9, н). Альтернирующие липидные и белковые участки составляют своего рода «мозаику». Углеводородные цепи липидов и большая часть неполярных аминокислотных остатков интегральных белков образуют внутреннюю часть мембраны, не контактируя с водой. Полярные головки липидов и несущие заряд аминокислотные остатки расположены преимущественно на наружной и внутренней поверхностях мембраны. Там же находятся углеводные группировки гликопротеинов и гликолипидов. Периферические белки прикреплены к поверхности мембраны с помощью электростатических сил. Некоторые из интегральных белков, имеющих два полярных полюса, связанных обширным гидрофобным участком, могут пронизывать мембрану насквозь. В некоторых случаях интегральные белки агрегированы, т. е. образуют сложные комплексы, состоящие из субъединиц. Между субъединицами могут оставаться узкие полости, заполненные водой.

Текущая, нестатичная модель, допуская химическое и морфологическое различие локусов мембраны, делает возможным перемещение этих локусов со скоростью, определяемой фактической вязкостью липидного матрикса. В жидкую мембрану могут встраиваться новые компоненты (например, антигены) — свойство очень важное в процессе клеточной дифференциации.

Однако ни один из трех типов моделей полностью не отвечает всем имеющимся данным о свойствах и функциях биологических мембран. Но считается неоспоримым, что в строении и функционировании мембран должны осуществляться следующие принципы: матричность, аллостерия, типизация и кооперативность.

### Структура липидного бимолекулярного слоя

Можно считать твердо установленным, что бимолекулярный слой представляет собой основной принцип организации липидов в биологических мембранах. Бимолекулярный слой мембран включает, как правило, фосфолипиды, холестерин и глико-



липиды (цереброзиды и сульфатиды, особенно характерные для миелиновых мембран). Избирательным действием фосфолипаз и методом замораживания со скалыванием была доказана неэквивалентность наружных и внутренних липидов в бимолекулярном мембранном слое. Мембранные фосфолипиды асимметрично распределены между внутренним и внешним слоями. Большая часть сфингомиелина и фосфатидилхолина локализована на внешнем (наружном) слое, в то время как аминифосфатиды (фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин) находятся на внутреннем цитоплазматическом слое. Возможно, что трансмембранная ориентация этих двух типов липидов в биологических мембранах обусловлена различиями в упаковке их полярных группировок.

В последнее время значительное внимание привлекают исследования передвижения липидных молекул в пределах мембраны. Имеется, по крайней мере, четыре интрамолекулярных движения липидов в бислое: латеральная диффузия — движение в плоскости бислоя, вращательная диффузия вокруг продольной оси молекул, вертикальные колебания липидных молекул, переход липидных молекул из одного монослоя в другой (флипп-флоп). Эти движения делают бимолекулярный слой липидов необычайно динамичным. Методами ЭПР и ЯМР показано, что переход фосфолипидных молекул из одного монослоя в другой протекает очень медленно. На все типы молекулярных движений липидных молекул сильное влияние оказывает состояние, в котором в данный момент находятся липиды бислоя, т. е. фазовые переходы липидов, переход их из гелеобразного в жидкокристаллическое состояние.

### Фазовые переходы липидов

Фазовые переходы — это замечательное свойство липидов проявляется в том, что при определенных температурах, строго характерных для каждого вида липидов, липидные мицеллы могут быть в «твердом», организованном, состоянии или в «жидком», мезофазном, так называемом жидкокристаллическом состоянии. Жидкие кристаллы называют анизотропными жидкостями, так как оптически они сходны с кристаллами, проявляющими анизотропные свойства (разные свойства в различных направлениях), а механически сходны с жидкостью (изотропны), так как текут в зависимости от вязкости. Жидкокристаллическое состояние липидов допускает различный уровень молекулярной организации дает ряд производных холестерина. Молекулы организованы в слои, организованных в ряды или на слои; нематическая (нитеподобная) организация — менее упорядоченная, чем первая, вязкая, молекулы не в слоях, но оси их параллельны длинным осям молекул: cholesteric — этот уровень организации: smectic (мылоподобная) организация — мутная



ганизованы в слои так, что длинные оси молекул перпендикулярны плоскости слоя.

Изучение фазовых переходов липидов важно потому, что с помощью их можно анализировать структурно-функциональную активность мембран. Например, установлена прямая связь между активностью определенных транспортных систем и степенью организованности, или жидкостности, мембранных липидов.

Фазовый переход липидов является эндотермическим процессом, сопровождающимся изменением энтропии и энтальпии. Кроме этих термодинамических параметров фазовый переход характеризуется кооперативностью, которая отражает число молекул, участвующих в нем. Для определения кооперативности введен так называемый фактор кооперативности. В тех случаях, когда переход некооперативный, этот фактор равен единице и уменьшается с увеличением кооперативности. Для фазового перехода (гель—жидкий кристалл) дистеарил-, дипальмитил-, диристолецитинов этот кооперативный фактор имеет значение  $10^{-3}$ , что указывает на высокую степень кооперативности. При увеличении длины цепи липидной молекулы он уменьшается, что подтверждает правило: при увеличении длины цепи липида возрастает кооперативность перехода. Так, при кооперативном переходе вышеуказанных липидов затрагивается не менее 30 молекул.

Увеличение длины липидной молекулы сказывается и на температуре фазового перехода. Для насыщенных лецитинов удлинение углеводородной цепи всего на две  $\text{CH}_2$ -группы увеличивает температуру перехода  $t$  почти на  $17^\circ\text{C}$ . При одной и той же длине цепи температура перехода уменьшается со степенью насыщенности. Например, для дистеарилфосфатидилэтаноламина ( $\text{C}_{18}$ -кефалина)  $t=82^\circ\text{C}$ , а для той же молекулы с одной транс-двойной связью (транс- $\text{C}_{18}$ -кефалина)  $t=41^\circ\text{C}$ , введение цис-двойной связи снижает температуру фазового перехода этой молекулы до  $15^\circ\text{C}$ .

Фазовые переходы липидов зависят от химической структуры полярных групп. Температуры переходов насыщенных кефалинов почти на  $26^\circ\text{C}$  выше, чем температуры лецитинов, имеющих ту же длину цепи. Это объясняется тем, что поскольку в кефалинах полярные группы менее массивны, то возможно электростатическое притяжение между липидными молекулами и, следовательно, более плотная упаковка бислоя. Кроме того, фазовый переход сильно зависит от степени гидратации липидных молекул и очень чувствителен к чужеродным молекулам, включенным в липидную мицеллу.

Во время фазовых переходов происходят структурные изменения липидов, которые можно оценить методами ядерно-магнитного и электронноспинового резонанса, флюоресцентной техникой, объемометрическими измерениями. При переходе из организованного в жидкокристаллическое состояние увеличивает



ся вращательная свобода углеводородной цепочки липидов. Ниже температуры фазового перехода углеводородные цепочки липидов имеют относительно жесткую *транс*-конфигурацию. Во время перехода наблюдается укорочение цепочки (за счет образования петли) и увеличение дистанции между молекулами, что вызывает боковое растяжение целого бислоя. Так, для пальмитиллецитина переход из геля в жидкокристаллическое состояние сопровождается увеличением пространства, занимаемого молекулой с 48 до 65—70 Å, т. е. объем бислоя увеличивается. Кроме латерального растяжения при температуре выше точки фазового перехода происходит увеличение скорости латеральной диффузии липидных молекул как результат уменьшения ван-дер-ваальсовых сил и энергии активации молекулярного смещения.

Структура бимолекулярного слоя в жидкокристаллическом состоянии сильно зависит от так называемого параметра порядка  $S$ . Спин-меченые эксперименты показали, что параметр порядка  $S$  непрерывно уменьшается от полярной области к концу цепочки, подтверждая, что структура бислоя организована в области полярных групп и дисорганизована внутри. Параметр порядка  $S$  постоянен почти для всей длины углеводородной цепочки, но резко уменьшен у трех последних углеродных атомов. Такое существование градиента подвижности свидетельствует о том, что углеводородные цепи упакованы наиболее плотно в области, примыкающей к глицериновым остаткам липидных молекул, и менее плотно — в центральной области бислоя. В результате плотность упаковки цепей в районе глицериновых остатков оказывается на 12% больше, чем в районе концевых метильных групп.

Холестерин оказывает двойное влияние на физические свойства фосфолипидного бислоя. При температуре, превышающей точку фазового перехода фосфолипида, холестерин уменьшает подвижность углеводородных цепей. При добавлении холестерина пространство, занимаемое одной молекулой лецитина, уменьшается с 96 до 56 Å. Вот почему высокое содержание холестерина характерно для миелина и плазматических мембран, тогда как во внутриклеточных мембранах содержание его незначительно. В плотных миелиновых мембранах фосфолипиды и холестерин содержатся в соотношении 1:1, а в менее плотных митохондриальных мембранах это соотношение равно от 3:1 до 8:1. Этот уплотняющий эффект холестерина максимален в районе центрального участка углеводородных цепей и ослабевает в направлении концевых С-метильных групп. При температуре ниже точки фазового перехода фосфолипидов холестерин разжижает углеводородную область бимолекулярного слоя.

При низких концентрациях холестерина в мембране происходит латеральная сегрегация фосфолипид-холестериновых комплексов и несвязанных молекул фосфолипидов. При этом хо-



лестерин взаимодействует в первую очередь с теми молекулами фосфолипидов, которые имеют более низкую температуру фазового перехода. При соответствующих соотношениях компонентов этот эффект приводит к латеральному разделению молекулярных видов фосфолипидов в пределах бислоя. Например, образуются отдельные фазы ненасыщенных (холестерин-связан-ных) и насыщенных (несвязанных) лецитинов. Латеральное разделение липидных компонентов в плоскости бислоя — важная особенность мембранных структур. Благодаря такому разделению в бислое имеются области, где все углеводородные цепочки находятся только в гелеобразном или только в жидкокристаллическом состоянии. И наряду с этим существуют области, где «организованные» и жидкие области сосуществуют. При этом жидкая область богаче фосфолипидами с низкой температурой плавления, а «твердая» богаче фосфолипидами с высокой температурой плавления, поэтому относительный размер «твердых» областей увеличивается, когда окружающая температура уменьшается. Латеральные фазовые разделения липидных смесей отличаются от фазовых переходов чистых липидов. Одни смешанные липиды проявляют «твердые», другие — «жидкие» фазовые несмешиваемости. Сосуществование таких гелеобразных и жидкокристаллических областей в пределах одной мембраны увеличивает ее сжимаемость, что может оказывать влияние на глубину погружения мембранных белков и эффективность работы мембранных насосов.

Фазовые переходы липидов в заряженных липидных слоях при постоянной температуре могут быть вызваны изменением параметров, имеющих биологическое значение, включая pH, ионную силу, концентрацию двухвалентных катионов, т. е. параметров, изменяющих заряд полярных групп липидов. Доказано, что температура фазового перехода есть функция заряда и плотности заряда на липидной молекуле. Любое увеличение заряда полярных групп благоприятствует жидкому состоянию из-за латерального электростатического отталкивания. Любое увеличение заряда уменьшает температуру фазового перехода, и наоборот. Поэтому увеличение заряда липида при постоянной температуре должно способствовать переходу геля в жидкокристаллическое состояние, тогда как уменьшение заряда обуславливает переход из жидкокристаллического состояния в гелеобразное.

Заряд на полярной группе липидов может изменяться в зависимости от pH или адсорбции двухвалентных катионов. При увеличении pH возрастает заряд фосфолипидов путем устранения протонов, и следствием этого является уменьшение температуры фазового перехода. Так, для димиристофосфатидной кислоты переход от pH 3,4 к 11,3 сопровождается уменьшением температуры фазового перехода от 53 до 25°С соответственно. Поэтому в тех температурных пределах, где точка перехода сильно



зависит от pH, возможно вызывать фазовые переходы липидов при постоянной температуре небольшим изменением pH, которое и имеет место в физиологических условиях. Тогда переход из жидкокристаллического в гелеобразное состояние будет происходить при уменьшении pH, а последовательное увеличение pH будет возвращать систему в жидкое состояние.

Другим путем изменения поверхностного заряда в физиологических условиях является поверхностная адсорбция двухвалентных катионов, вызывающая увеличение температуры фазового перехода в результате снижения поверхностной плотности заряда. Так, ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  стабилизируют организованную структуру и увеличивают температуру фазового перехода, тогда как одновалентные катионы оказывают противоположный эффект. Двухвалентные катионы благоприятствуют гелеобразному состоянию, а одновалентные — жидкому состоянию системы. Таким образом, в определенных температурных пределах переход из одного состояния в другое при постоянной температуре можно осуществить небольшим изменением ионного баланса в области мембраны. Система становится еще более тонко балансируемой в том случае, когда ионные эффекты сочетаются с вариациями pH.

Представляет особый интерес вопрос — могут ли начаться фазовые переходы липидов при освобождении или адсорбции катионов на мембранной поверхности? Связывание катионов заряженными липидами сильно зависит от поверхностного потенциала, который имеет разные значения в гелеобразном и жидкокристаллическом состояниях из-за различий в молекулярной упаковке (или плотности поверхностного заряда) в этих двух состояниях. При определенных физиологических условиях структурные изменения липидов могут вызвать «выбросы» двухвалентных катионов с мембранной поверхности. Например, при переходе гель — жидкий кристалл с липидной поверхности освобождаются ионы  $\text{Ca}^{2+}$ .

Взаимодействие между двухвалентными катионами и отрицательно заряженными липидами имеет поэтому два основных аспекта: 1) двухвалентные катионы при постоянной температуре могут вызывать переход жидкого кристалла в гель; 2) обратный переход гель — жидкий кристалл происходит при выбросе двухвалентных катионов, в частности ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с поверхности. Поверхность липидов может рассматриваться как резервуар двухвалентных катионов, который способен активироваться структурными изменениями в липидной ламелле. Существует и обратная связь, когда структурные изменения липидов мембраны вызывают изменения ионного состава окружения мембраны. Таким образом, в присутствии одно- и двухвалентных катионов на поверхности липидов происходят довольно сложные ионообменные явления, сопровождающиеся серьезными изменениями при



фазовых переходах липидов, причем пластичность этой системы очень высока.

Для нормальной активности белков требуется жидкообразное состояние мембранных липидов. Жидкий липидный матрикс служит растворителем для интегральных мембранных белков. Жидкость липидов определяет как вращательную, так и диффузионную свободу этих белков и их способность подвергаться конформационным функциональным изменениям. Вращательная и латеральная диффузия белков являются простым следствием латерального движения мембранных липидов.

В бимолекулярном слое имеются два пула липидов, подвергающихся существенно различным скоростям диффузии. Один пул представлен липидами, находящимися в коротко-радиусных взаимодействиях с белками и потому подвергающимися ограниченной латеральной диффузии. Такие коротко-радиусные взаимодействия могут быть очень специфичными и вовлекать в тесную ассоциацию только данный тип липидов с особыми белками. Именно потому для активации (и реактивации) мембранных ферментов требуются специфические липиды, которые выступают здесь в качестве аллостерических эффекторов. Такой пул липидов составляет 20%. Было подсчитано, какое число фосфолипидных молекул может быть прикреплено к каждой белковой молекуле внутри бислоя. Так, белок, имеющий 80 Å в диаметре и 50 Å в длину, должен быть окружен минимально 56 молекулами фосфолипидов. Доказано, что можно изменять активность мембранных белков изменением связанных с ними липидов без регулирующей генетической модификации белка. Такие взаимодействия могут быть очень важны, так как они определяют мембранные характеристики, которые лежат в основе различных функциональных связей.

Другой пул липидов, удаленных от белков и подвергающихся быстрой латеральной диффузии, характерной для липидного бислоя непронизанного белком, составляет 80%. Эффект этих липидов, оказываемый на белки, аналогичен растворяющему эффекту воды на свойства растворимого белка. Поэтому изменения в липидной среде должны изменять свойства липид-растворимого белка таким же образом, как изменения в ионной силе и других свойствах водного раствора меняют активность водно-растворимого белка.

Широкий спектр липидных молекул порождает огромное разнообразие специфических взаимодействий с мембранными белками. Мембранные белки избирательно требуют определенных липидных молекул, включающих как полярные головные группы, так и неполярные боковые цепочки. Специфическое взаимодействие между поверхностными белками и липидами будет зависеть от конформации белка, которая, в свою очередь, управляется генетически детерминированной последовательностью аминокислот.



Методами кругового дихроизма и флюоресценции доказана обратимость конформационных изменений белка, вызванных фазовыми переходами липидов. Поэтому функция белков может ингибироваться или активироваться жидкокристаллическим или гелеобразным состоянием липидов. Кроме взаимодействия между белками и липидами существуют еще взаимодействия как между различными белками, так и между определенными видами липидов. Поскольку мембраны являются мозаикой множества различных липидов и липидный состав отдельных участков мембраны существенно различается, то белки могут существовать в различных конформационных состояниях в зависимости от локального состава липидов.

Разнообразие фазовых переходов липидов, их легкая гидратируемость и поляризуемость делают их незаменимыми компонентами нейрональных мембран, в которых изменения электрических и магнитных свойств лежат в основе проведения возбуждения.

Следовательно, мембрана — это самый сложный и хорошо организованный макромолекулярный комплекс, которому присущ необычайный молекулярный динамизм. Быстрейшая функциональная связь (со скоростью  $10^{-6}$ — $10^{-9}$  с) между макромолекулами клеток мозга прекрасно демонстрирует этот динамизм. Изменения, возникающие в мельчайших локусах мембраны ( $10^{-3}$  М и ниже, до одной молекулы) при приложении минимальной энергии (до одного кванта в зрительной системе) посредством аллостерии, кооперативности и фазовых трансмодальных перестроек, ведут к громадному эффекту вдоль всей мембраны.

#### 4.2. ОСОБЕННОСТИ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Липидный состав мембран нервной системы не изучен, некоторое исключение составляют лишь миелиновые оболочки позвоночных. Однако, несмотря на неполноту сведений, именно химические различия состава этих мембран лежат в основе их специфического функционирования.

Липидный состав мозга уникален не только по высокой концентрации общих липидов, но и по типам представленных липидов. Почти все липиды нормального мозга представлены тремя главными категориями: глицерофосфолипидами, сфинголипидами, холестерином. Последний является единственным стеролом нормального мозга взрослого, эфиры холестерина почти не найдены в нормальном мозгу. В головном мозгу практически отсутствуют триглицериды и свободные жирные кислоты, а тот небольшой процент их, который обнаруживается, привносится кровью и кровеносными сосудами. Сфинголипиды мозга



содержат в качестве длинноцепочечного основания  $C_{18}$ -сфинго-  
зин, а также небольшие количества  $C_{16}$ -,  $C_{20}$ - и  $C_{22}$ -сфингозинов  
и насыщенные формы дигидросфингозина.

Нормальный мозг содержит только галактоцереброзиды и  
галактосульфатиды, в то время как в других органах присутст-  
вуют глюкоцереброзиды с очень малым количеством галакто-  
цереброзидов. Галактолипиды мозга содержат большую propor-  
цию длинноцепочечных жирных кислот  $C_{22}$ — $C_{26}$ , которые очень  
редко встречаются в висцеральных органах. Кроме того, для га-  
лактолипидов мозга характерен большой процент  $\alpha$ -гидрокси-  
кислот: 2/3 в цереброзидах и 1/3 в сульфатидах. Ганглиозиды  
мозга уникальны не только из-за своей высокой концентрации,  
но и из-за разнообразия индивидуальных ганглиозидов (в вис-  
церальных органах преобладает  $G_{M3}$ ). Фосфолипиды мозга не-  
обычайно разнообразны, а плазмалогены представлены глав-  
ным образом фосфатидальэтаноламином и в меньшей мере  
фосфатидальхолином и фосфатидальсерином.

Липидный состав нормального взрослого мозга представлен  
в табл. 18, в которой даны соотношения на сырой вес, сухой вес

Таблица 18

Липидный состав мозга взрослого человека, % (Suzuki, 1972)

Составные части	Серое вещество			Белое вещество		
	сырой вес	сухой вес	общие липиды	сырой вес	сухой вес	общие липиды
Вода	81,9	—	—	71,6	—	—
Нерастворимый осадок в хлоро- форме—метаноле	9,5	52,6	—	8,7	30,6	—
Протеолипидный белок	0,5	2,7	—	2,4	8,4	—
Общие липиды	5,9	32,7	100	15,6	54,9	100
Твердый осадок верхней фазы	2,2	12,1	—	1,7	6,0	—
Холестерин	1,3	7,2	22,0	4,3	15,1	27,5
Общие фосфолипиды	4,1	22,7	69,5	7,2	25,2	45,9
Этаноламин-Ф	1,3	7,2	22,7	2,3	8,2	14,9
Лецитин	1,6	8,7	26,7	2,0	7,0	12,8
Сфингомиелин	0,4	2,3	6,9	1,2	4,2	7,7
Монофосфоинозитид	0,16	0,9	2,7	0,14	0,5	0,9
Серинфосфатиды	0,5	2,8	8,7	1,2	4,3	7,9
Плазмалогены	0,7	4,1	8,3	1,8	6,4	11,2
Общие галактолипиды	0,4	2,4	7,3	4,1	14,5	26,4
Цереброзиды	0,3	1,8	5,4	3,1	10,9	19,8
Сульфатиды	0,1	0,6	1,7	0,9	3,0	5,4
Общие ганглиозиды	0,3	1,7	—	0,05	0,18	—



кислот: 2/3 в цереброзидах и 1/3 в сульфатидах. Ганглиозиды мозга уникальны не только из-за своей высокой концентрации, но и из-за разнообразия индивидуальных ганглиозидов (в висцеральных органах преобладает G<sub>M3</sub>). Фосфолипиды мозга необычайно разнообразны, а плазмалогены представлены главным образом фосфатидальэтаноламином и в меньшей мере фосфатидальхолином и фосфатидальсерином.

Липидный состав нормального взрослого мозга представлен в табл. 18, в которой даны соотношения на сырой вес, сухой вес

Таблица 18

Липидный состав мозга взрослого человека, % (Suzuki, 1972)

Составные части	Серое вещество			Белое вещество		
	сырой вес	сухой вес	общие липиды	сырой вес	сухой вес	общие липиды
Вода	81,9	—	—	71,6	—	—
Нерастворимый осадок в хлороформе—метаноле	9,5	52,6	—	8,7	30,6	—
Протеолипидный белок	0,5	2,7	—	2,4	8,4	—
Общие липиды	5,9	32,7	100	15,6	54,9	100
Твердый осадок верхней фазы	2,2	12,1	—	1,7	6,0	—
Холестерин	1,3	7,2	22,0	4,3	15,1	27,5
Общие фосфолипиды	4,1	22,7	69,5	7,2	25,2	45,9
Этаноламин-Ф	1,3	7,2	22,7	2,3	8,2	14,9
Лецитин	1,6	8,7	26,7	2,0	7,0	12,8
Сфингомиелин	0,4	2,3	6,9	1,2	4,2	7,7
Монофосфоинозитид	0,16	0,9	2,7	0,14	0,5	0,9
Серинфосфатиды	0,5	2,8	8,7	1,2	4,3	7,9
Плазмалогены	0,7	4,1	8,3	1,8	6,4	11,2
Общие галактолипиды	0,4	2,4	7,3	4,1	14,5	26,4
Цереброзиды	0,3	1,8	5,4	3,1	10,9	19,8
Сульфатиды	0,1	0,6	1,7	0,9	3,0	5,4
Общие ганглиозиды	0,3	1,7	—	0,05	0,18	—



мозга и на общий вес липидов. Белое и серое вещества мозга отличаются как по концентрации, так и по распределению индивидуальных липидов. Белое вещество содержит меньше воды, значительно больше липидов и протеолипидов. На сырой вес белое вещество содержит в 3 раза больше липидов, чем серое (15,6 и 5,9 соответственно) и почти в 2 раза больше липидов по данным сухого веса. Интересным отличием серого вещества от белого является то, что белое вещество богаче галактолипидами и относительно бедно фосфолипидами (в белом веществе галактолипидов 25—30%, а в сером 5—10%). Фосфолипиды в белом веществе составляют чуть меньше половины всех липидов, в сером веществе — 2/3 от общего количества липидов. Серое вещество в 10 раз богаче ганглиозидами, чем белое вещество. За исключением обогащения серого вещества ганглиозидами, все другие различия в липидном составе между белым и серым веществами, по-видимому, обусловлены прежде всего присутствием миелина в последнем.

### Жирнокислотный состав липидов головного мозга

Головной мозг отличается очень высоким содержанием жирных кислот, на их долю приходится 20—25% сухого остатка мозга. Кроме того, ни одна другая ткань не характеризуется таким богатейшим спектром жирных кислот, как мозг. В липидах мозга обнаружено около 40 различных жирных кислот, среди которых найдены насыщенные, ненасыщенные, нормальные и гидроксикислоты (нечетные). Содержание важнейших жирных кислот головного мозга представлено в табл. 19.

Таблица 19

Содержание важнейших жирных кислот в головном мозгу, % от суммы (Eichberg e. a., 1969)

Кислота	Целый мозг	Кора больших полушарий
16:0 пальмитиновая	24,0	28,7
18:0 стеариновая	23,0	15,5
18:1 олеиновая	32,6	22,0
20:4 арахидоновая	6,5	6,0
22:5 докозапентаеновая	2,0	11,8
22:6 докозагексаеновая		
24:0 лигноцериновая	0,5	0,5
24:0 нервоновая		
ОН—24:0 цереброновая		
ОН—24:1 оксинервоновая		

Жирные кислоты, отличные по длине, месту расположения и количеству двойных связей, придают специфичность разным



классам липидов мозга (фосфолипидам, гликолипидам), а также индивидуальным липидам внутри каждого класса, что иллюстрируется табл. 20 и 21. Фосфолипиды отличаются друг от друга количественным соотношением жирных кислот. Фосфатидилхолин характеризуется высоким содержанием пальмитино-

Состав и содержание жирных кислот основных фосфолипидов головного мозга человека, % от суммы жирных кислот (O'Brien, Sampson, 1965)

Кислота	Серое вещество						Белое вещество		
	Фосфатидил-								
	холин	этаноламин	серин	холин	этаноламин	серин			
14:0	2,9	0,2	0,3	1,3	0,5	0,3			
16:0	45,0	6,7	2,3	34,3	6,7	1,7			
16:1	3,1	0,4	0,3	1,0	1,4	0,4			
18:0	9,3	26,0	25,4	13,4	9,0	35,8			
18:1	31,4	11,9	21,5	45,2	42,4	39,7			
18:2	0,4	Следы	Следы	0,4	Следы	0,3			
20:1	0,7	1,5	1,0	1,1	7,9	5,3			
20:4	4,1	13,8	1,6	1,3	6,4	2,0			
22:5	—	14,3	5,0	—	13,7	4,8			
22:6	3,1	24,3	36,6	0,1	3,4	5,6			

Таблица 21

Состав жирных кислот сфинголипидов головного мозга человека, % от суммы жирных кислот (O'Brien, Sampson, 1967)

Кислота	Сфингомиелин	Нормальные		Гидроксикислоты		Ганглиозиды
		Церебро-зиды	Сульфатиды	Церебро-зиды	Сульфатиды	
14:1	Следы	0,5	5,0	6,1	2,4	—
16:0	10,2	3,6	7,7	7,9	6,3	—
18:1	6,5	1,3	2,6	Следы	1,1	—
18:0	20,1	12,2	6,1	2,1	2,3	86,0
20:0	1,1	1,0	1,9	1,3	1,6	10,0
22:1	1,3	0,3	0,2	Следы	0,2	—
22:0	1,7	2,9	1,4	8,8	13,2	3,0
23:1	1,3	1,1	0,5	Следы	Следы	—
23:0	2,8	3,0	2,3	11,8	12,2	—
24:1	30,2	43,3	28,8	15,8	8,4	—
24:0	6,9	10,4	17,6	29,9	41,2	—
25:1	8,3	7,8	12,4	3,2	5,4	—
25:0	3,4	3,5	5,5	4,3	2,0	—
26:1	5,5	7,0	5,7	4,0	2,0	—
26:0	Следы	1,3	1,2	Следы	Следы	—



вой, стеариновой, олеиновой кислот, на их долю приходится около 90% суммарного содержания жирных кислот. Фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин отличаются от других фосфолипидов большим количеством полиеновых кислот (20:4, 22:5, 22:6). Правда, в фосфатидилэтаноламине значительно больше арахидоновой и докозагексаеновой кислот, в фосфатидилсерине — докозагексаеновой. Отличен жирнокислотный состав фосфолипидов серого и белого веществ мозга. Так, в фосфатидилхолине серого вещества больше пальмитиновой кислоты и меньше олеиновой, чем в фосфатидилхолине белого. Фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин серого вещества обогащены полиеновыми кислотами, особенно докозагексаеновой. На долю этих кислот в сером веществе приходится более 50% от суммарного содержания кислот в указанных фракциях, в то время как в белом веществе они составляют всего 12—23%.

Своеобразный жирнокислотный состав характерен и для сфинголипидов головного мозга. В сфингомиелине, цереб्रोзидах и сульфатидах преобладают насыщенные и моноеновые кислоты с 24 углеродными атомами (24:0, 24:1). В цереброзидах и сульфатидах обнаружены также разнообразные гидроксикислоты, на долю которых приходится около 50%. Из гидроксикислот также доминируют длинноцепочечные кислоты (23:0, 24:0, 24:1).

Существенная разница жирнокислотного состава фосфолипидов и сфинголипидов объясняется прежде всего принадлежностью этих липидов к различным типам нейрональных мембран. Цереброзиды, сульфатиды наряду со сфингомиелином являются классическими миелиновыми липидами, необходимыми компонентами миелиновых мембран. Установлено, что силы гидрофобного взаимодействия между длинными углеводородными цепями жирных кислот играют большую роль в обеспечении стабильности миелина.

Таким образом, большая жирнокислотная гетерогенность липидов нейрональных мембран — это и залог их структурной лабильности, и основа их важнейших физико-химических свойств. Определенный состав жирных кислот в отдельных липидах является очень важным фактором в обеспечении нормальной функциональной активности мозга. Жирнокислотный состав липидов сильно сказывается на активности липид-зависимых ферментов.

Доказано, что жирнокислотный состав отдельных липидов резко изменяется в онтогенезе. В цереброзидах и сульфатидах в незрелом мозгу преобладают пальмитиновая, стеариновая и олеиновые кислоты. По мере развития количество этих кислот уменьшается, зато сильно увеличивается доля длинноцепочечных кислот — лигноцериновой, нервоновой и гидроксикислот. В сфингомиелине головного мозга людей с возрастом почти вдвое уменьшается содержание стеариновой кислоты. Доля длинноце-



почечных кислот, напротив, с возрастом увеличивается (в мозгу взрослых людей их содержание в 10 раз выше, чем у детей). Во фракциях фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина с возрастом увеличивается содержание полиеновых кислот и уменьшается содержание пальмитиновой кислоты.

Ряд заболеваний нервной системы сопровождается атипичным составом жирных кислот. Так, при сфинголипидодистрофии (болезнь Нимана—Пика) в накапливающемся сфингомиелине резко снижен процент длинноцепочечных жирных кислот. У больных амавротической идиотией в составе ганглиозидов обнаружены значительные количества ненасыщенной линолевой кислоты, которая в норме в ганглиозидах не найдена. При нарушении процесса миелинизации резко меняется нормальное соотношение жирных кислот в цереброзидах, сульфатидах и сфингомиелине. Особенно отчетливо прямая связь между многочисленными морфологическими и функциональными нарушениями в мозгу и измененным составом жирных кислот проявляется в случае так называемой болезни Рефсума, когда причиной этих нарушений является накопление в мозговых липидах нетипичной для них фитановой (тетраметилгексадекановой) кислоты.

### Накопление липидов в процессе развития головного мозга

Существенные изменения липидного состава мозга происходят во время его формирования. Наиболее быстрое увеличение содержания липидов мозга наблюдается после периода наивысшего увеличения ДНК и белка, что совпадает с началом миелинизации. Липиды развивающегося мозга подразделяют на 4 группы на основе их наивысшего изменения в период миелинизации. Рассмотрим эти изменения на примере мозга крысы как объекта наиболее изученного.

Первая группа. В первые 6 дней постнатального развития у крыс резко меняется концентрация эфиров холестерина и ганглиозидов. Эфиры холестерина являются единственными липидами, концентрация которых заметно уменьшается: от 2 мкмоль на 1 г сырого веса до концентрации, составляющей менее 5% от начальной. У крыс это снижение происходит задолго до начала миелинизации, что отражает пролиферацию клеток или очень раннюю дифференциацию глиальных клеток.

Ганглиозиды на третий день постнатального развития составляют 27% от их содержания у взрослого организма. Концентрация ганглиозидов за 24 последующих дня быстро увеличивается, достигая 90% от уровня взрослого животного. Спектр индивидуальных ганглиозидов также меняется: при рождении преобладает  $G_{M1}$ , а затем увеличивается содержание  $G_{D1a}$ . Увеличение количества ганглиозидов и изменение их состава связано с ростом аксонов и дендритов.



Вторая группа включает цереброзиды, сульфатиды, сфингомиелин, трифосфоинозитиды, фосфатидные кислоты, галактозилдиглицериды. На третий день постнатального развития их концентрация низкая (менее 10% от уровня взрослого), а затем резко увеличивается в период от 12 до 18 дня. Пять первых перечисленных липидов являются основными компонентами миелиновых мембран, их низкая концентрация при рождении подтверждает, что они локализованы в специальных мембранных структурах, которые появляются в мозгу во время миелинизации. Полифосфоинозитиды и фосфатидные кислоты отличаются от других липидов этой группы, так как они продолжают заметно увеличиваться и после 24 дней, когда остальные липиды этой категории достигают почти взрослого уровня.

Третья группа включает фосфатидальэтаноламин, фосфатидальхолин, холестерин, фосфатидилсерин, фосфатидилглицерин, концентрация которых составляет 12—34% от взрослого уровня и увеличивается во время миелинизации, но не столь значительно, как у липидов II группы. Первые три представителя этой группы локализованы в мембранах миелина, и их нарастание связано с миелинизацией.

Четвертая группа включает три главных липида — фосфатидальэтаноламин, лецитин и монофосфоинозитид, концентрация которых составляет 50—59% от содержания взрослого мозга и очень медленно увеличивается в период развития мозга. Известно, что эти липиды являются повсеместными компонентами большинства мембранных структур и спектр их изменений не связан с преимущественными изменениями каких-либо специфических мембранных образований.

Таким образом, различные классы липидов характеризуются индивидуальным характером изменения и накопления в период созревания и развития мозга.

### **Некоторые аспекты липогенеза в головном мозгу**

Исключительная роль липидов в деятельности центральной нервной системы заставляет уделять особое внимание вопросам липогенеза и механизмам его регуляции в головном мозгу. Следует отметить, что это направление в последнее время усиленно разрабатывается. Как показали исследования Ф. Е. Путильной, в разные периоды развития головного мозга интенсивность биосинтеза и накопления жирных кислот различны, о чем свидетельствует как величина удельной радиоактивности жирных кислот при использовании в качестве предшественников  $^{14}\text{C}$ -ацетата,  $^{14}\text{C}$ -глюкозы или  $^{14}\text{C}$ -аминокислот, так и их содержание. В табл. 22 представлены данные, характеризующие интенсивность накопления жирных кислот в головном мозгу крыс в разные периоды постнатального развития животного. Жирные кис-



лоты как свободные, так и входящие в состав липидов, наиболее интенсивно накапливаются в период с 10-го по 20-й день постнатальной жизни животного. Этот период в развитии головного мозга крыс характеризуется усиленным липогенезом, интенсивным биосинтезом липидов и жирных кислот в связи с активной миелинизацией нервных волокон.

Таблица 22  
Содержание жирных кислот в общей фракции липидов головного мозга крыс разного возраста (Путилина, 1978)

Возраст животных, дни	Вес мозга, г	Содержание жирных кислот		Прирост в мкмоль за каждые 10 дней
		в %	в мкмоль на целый мозг	
1	0,40	0,4	6,2	51,3
10	0,92	1,6	57,5	96,6
20	1,36	2,9	154,1	20,1
30	1,44	3,1	174,2	
90	1,80	3,9	274,2	$\frac{100}{6} = 18,3$

В ходе биосинтеза жирных кислот имеют место несколько восстановительных реакций, которые контролируются пиридиновыми нуклеотидами. При митохондриальном биосинтезе жирных кислот  $\text{de novo}$  в качестве восстановительного эквивалента предпочтительнее используется восстановленная форма НАДФ. На рис. 10 представлена зависимость активности синтетазы жирных кислот от величины отношения НАДФН/НАДФ в головном мозгу крыс в ходе постнатального развития животного. Уменьшение величины отношения НАДФН/НАДФ сопровождается падением активности фермента. При митохондриальном удлинении жирных кислот по крайней мере одна из двух восстановительных реакций, имеющих место при присоединении каждого двух атомов углерода к уже существующей цепочке жирной кислоты, протекает интенсивнее в присутствии НАДФН, а не НАДН.

Преобразование насыщенных жирных кислот в ненасыщенные также требует наличия восстановленного НАДФ.

Таким образом, биосинтез насыщенных и ненасыщенных

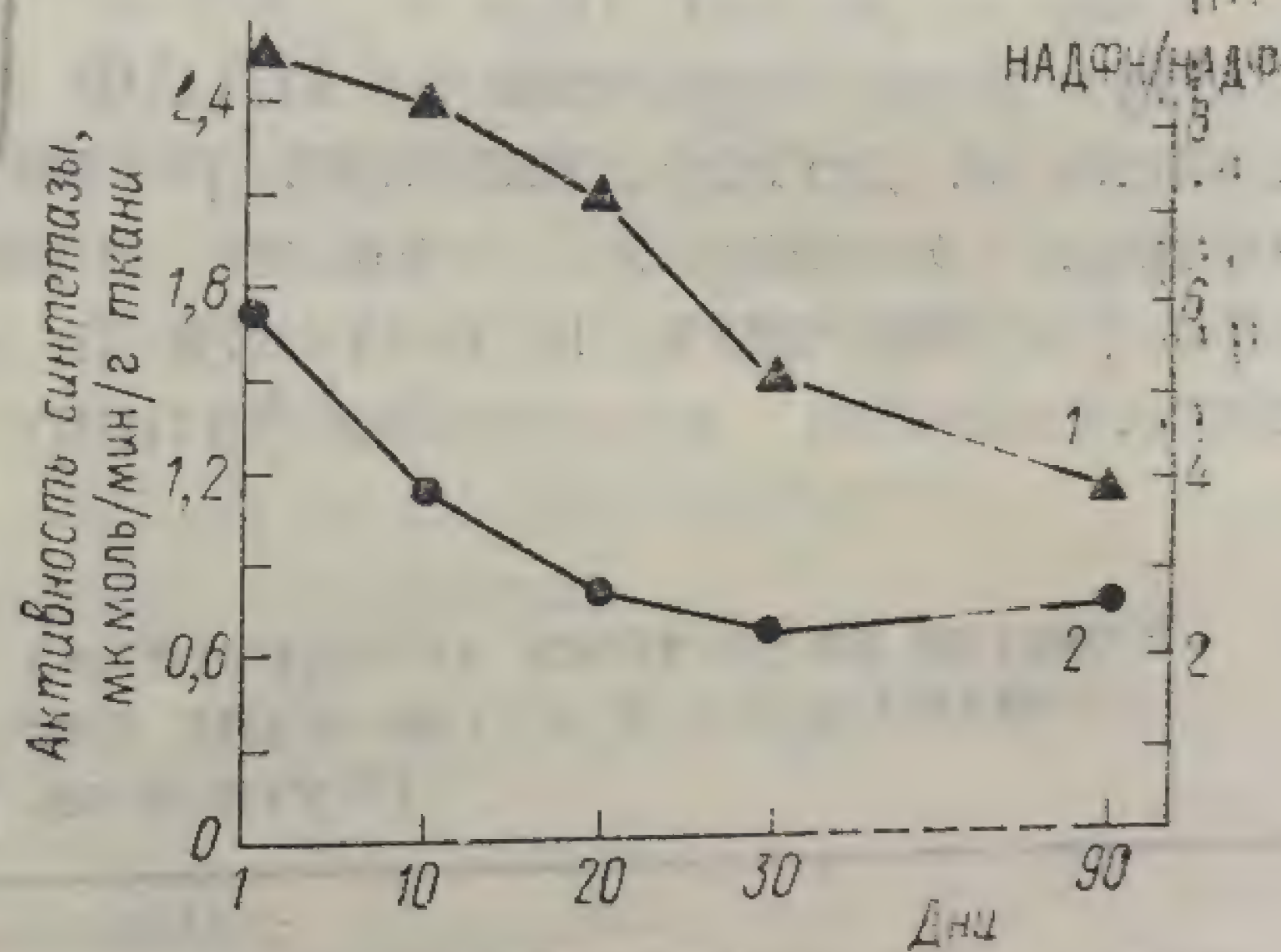


Рис. 10. Изменение активности синтетазы жирных кислот (1) и отношения НАДФН/НАДФ (2) в мозгу крыс разного возраста.

Таким образом, биосинтез насыщенных и ненасыщенных



жирных кислот в значительной мере зависит от степени восстановленности НАДФ. Если учесть, что ткань головного мозга более богата жирными кислотами по сравнению с другими органами, то можно представить, как много требуется восстановительных эквивалентов только для биосинтеза жирных кислот. Восстановленная форма НАДФ используется также в восстановительных реакциях, имеющих место при биосинтезе холестерина и сфингозина.

Имеющиеся литературные данные и исследования, проведенные Путилиной, свидетельствуют о том, что в головном мозгу содержатся относительно небольшие количества НАДФН и НАДФ<sup>+</sup> по сравнению с другими органами, например с печенью, где содержание этих коферментов соответственно в 20 и 10 раз выше. Кроме того, результаты исследований показывают преобладание восстановленного кофермента над окисленным, быстрое использование НАДФН для нужд липогенеза и других восстановительных биосинтезов в мозгу особенно растущих животных, а также необходимость постоянного пополнения пула восстановленного кофермента и поддержания величины отношения НАДФН/НАДФ<sup>+</sup> на относительно постоянном уровне в зависимости от физиологического состояния животного. Так, по мере постнатального развития крыс суммарное количество НАДФ (НАДФН+НАДФ<sup>+</sup>) в головном мозгу уменьшается, а в печени, напротив, возрастает. Наибольшее количество НАДФ наблюдается в мозгу растущих животных в период усиленного липогенеза между 10-м и 20-м днями постнатального развития.

Пул восстановленного НАДФ пополняется за счет НАДФ-зависимых дегидрогеназных реакций, наиболее важными из которых являются реакции окисления глюкозо-6-фосфата, 6-фосфоглюконата, изоцитрата и малата, катализируемые дегидрогеназами пентозофосфатного пути окисления глюкозы

Таблица 23

Участие различных дегидрогеназ в восстановлении НАДФ в митохондриях и цитоплазме клеток головного мозга крыс (Путилина, 1974)

Возраст животных, дни	Образование НАДФН, %					
	Митохондрии			Цитоплазма		
	дГ ПФП	ИЦДГ	МДГ	дГ ПФП	ИЦДГ	МДГ
1	21,6	71,8	5,2	53,7	42,1	4,0
10	16,8	68,5	15,3	63,2	30,9	5,8
20	20,3	61,8	18,3	74,8	17,7	7,5
30	17,4	63,4	19,2	77,1	17,4	5,5
90	8,3	56,1	35,6	72,5	15,8	11,7

(Г6ФДГ, 1.1.1.49 и 6ФГДГ, 1.1.1.44), и НАДФ-зависимыми изоцитрат- (ИЦДГ, 1.1.1.42) и малатдегидрогеназами (МДГ, 1.1.1.40). Если условно принять, что восстановленная форма



НАДФ генерируется только в ходе этих четырех реакций, и сравнить активность ферментов, катализирующих их, то можно приблизительно рассчитать долю участия каждой из перечисленных выше реакций в обеспечении липогенеза головного мозга восстановительными эквивалентами (табл. 23). Более половины НАДФ в цитоплазме клеток головного мозга крыс восстанавливается в ходе окислительных реакций пентозофосфатного пути, причем с ростом роль этих реакций в генерировании восстановительных эквивалентов еще увеличивается, и у взрослых животных на долю их приходится образование более 70% восстановленного НАДФ.

В митохондриях клеток головного мозга НАДФ восстанавливается главным образом за счет изоцитратдегидрогеназной реакции у всех возрастных групп. Приведенные в табл. 23 результаты при всей относительности дают представление о роли четырех дегидрогеназных реакций в поддержании пула восстановленного фосфорилированного кофермента в головном мозгу животных в различные периоды постнатальной жизни.

Таким образом, скорость липогенеза в головном мозгу неодинакова в различные периоды постнатальной жизни животного и находится под контролем ряда факторов, действие которых взаимосвязано и хорошо скоординировано. Интенсивность липогенеза в головном мозгу животных разного возраста контролируется соотношением окисленных и восстановленных форм НАДФ. Величина отношения НАДФН/НАДФ<sup>+</sup> в значительной мере зависит от скорости НАДФ-зависимых дегидрогеназных реакций, к числу которых относятся дегидрогеназные реакции ПФП, НАДФ-ИЦДГ и НАДФ-МДГ. Рассмотренные механизмы регуляции липогенеза головного мозга хотя и не исчерпывают всех действующих одновременно с ними факторов, несомненно, относятся к числу наиболее важных.

#### 4.3. ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ НЕЙРОНАЛЬНЫХ И ГЛИАЛЬНЫХ МЕМБРАН

Знания об организации нейрональных мембран (аксональных, дендритных, синаптических) пока очень фрагментарны. Современным теориям о структуре и функционировании нейрональных мембран недостает убедительных данных даже о химическом различии мембран глиальных и нейрональных. В то же время установлено, что мембраны шванновских и глиальных клеток, не включающихся в процесс миелинизации, имеют иной химический состав, чем мембраны клеток, дающих начало миелину. Показано, однако, что между нейрональными и глиальными мембранами очень мало различий в липидном составе. Единственное реально установленное различие состоит в том, что дендритные, аксональные и синаптические мембраны обогащены ганглиозидами (табл. 24). Основное отличие



нейрональных и глиальных мембран от плотно сконденсированных, многослойных миелиновых мембран заключается в том, что первые мембраны (дендритные, аксональные, синаптические,

Таблица 24

Химический состав некоторых нейрональных мембран (Johnston, Roots, 1972)

Объект исследования	Липиды
Нейрон Миелин	Фосфатиды : холестерин : цереброзиды = 2 : 2 : 1, много плазмалогенов, преобладают длинноцепочечные кислоты. <i>Очень мало ганглиозидов</i>
Дендриты Нервные окончания Плазматическая мембрана	<i>Необычайно богаты ганглиозидами</i> <i>Необычайно богаты ганглиозидами</i> Больше фосфолипидов, чем холестерина, мало цереброзидов и плазмалогенов, много полиненасыщенных кислот. <i>Есть ганглиозиды</i>
Глия Плазматическая мембрана	Зависит от вида глии; больше фосфолипидов, чем холестерина, много полиненасыщенных кислот.
Астроциты Олигодендроглия	<i>Есть ганглиозиды</i> Мало холестерина, цереброзидов. <i>Нет ганглиозидов</i>
Нейроны и глия Митохондрии	Есть кардиолипин, мало линолевой кислоты, много олеиновой
Ядра	Нет органной специфичности в составе фосфолипидов

соматические) имеют внешнюю зону (покрытие, «опушенность»), так называемый гликокаликс. Если по липидному составу нейрональные и глиальные мембраны почти идентичны, то внешняя зона этих двух типов мембран отлична. Синаптические, аксональные, дендритные и соматические мембраны на своей поверхности, во внешней зоне, имеют ганглиозиды и гликопротеины (рис. 11). Глиальные же мембраны мукополисахариды. Эти компоненты, занимая внешнюю зону нейрональных мембран, обращены в межклеточное пространство или синаптическую щель — зону, которая является истинной функциональной основой для возбудимости нейрональных мембран.

В последние годы нейрохимии для выяснения природы возбудимости нейрональных мембран обратили свое внимание на экстраклеточную среду нейрона и окружающие его элементы. Было предложено считать функциональной единицей не нейрон, а две прилегающие противоположные мембраны (нейро-



нальную и глянцевую) с межклеточным пространством между ними (рис. 12), поскольку именно на этом участке происходят чрезвычайно важные процессы. Специфичность поверхности нейрональных мембран определяется: 1) первичной структурой олигосахаридной части гликолипидов, гликопротеинов, гликозамингликанов; 2) порядком их организации; 3) площадью, занимаемой гликолипидами и гликопротеинами.



Рис. 11. Современная модель мембраны (Nicolson, 1976)

1 — олигосахаридная часть гликопротеинов и гликолипидов, ориентированная наружу; 2 — молекула гликозамингликана, соединяющая две олигосахаридные цепочки; 3 — гликопротеин, пронизывающий мембрану и соединяющийся с филаментными белками; МТ — микротрубочки; МФ — микрофиламенты.

В следующем разделе мы несколько подробнее рассмотрим роль ганглиозидов на поверхности нейрональных мембран.



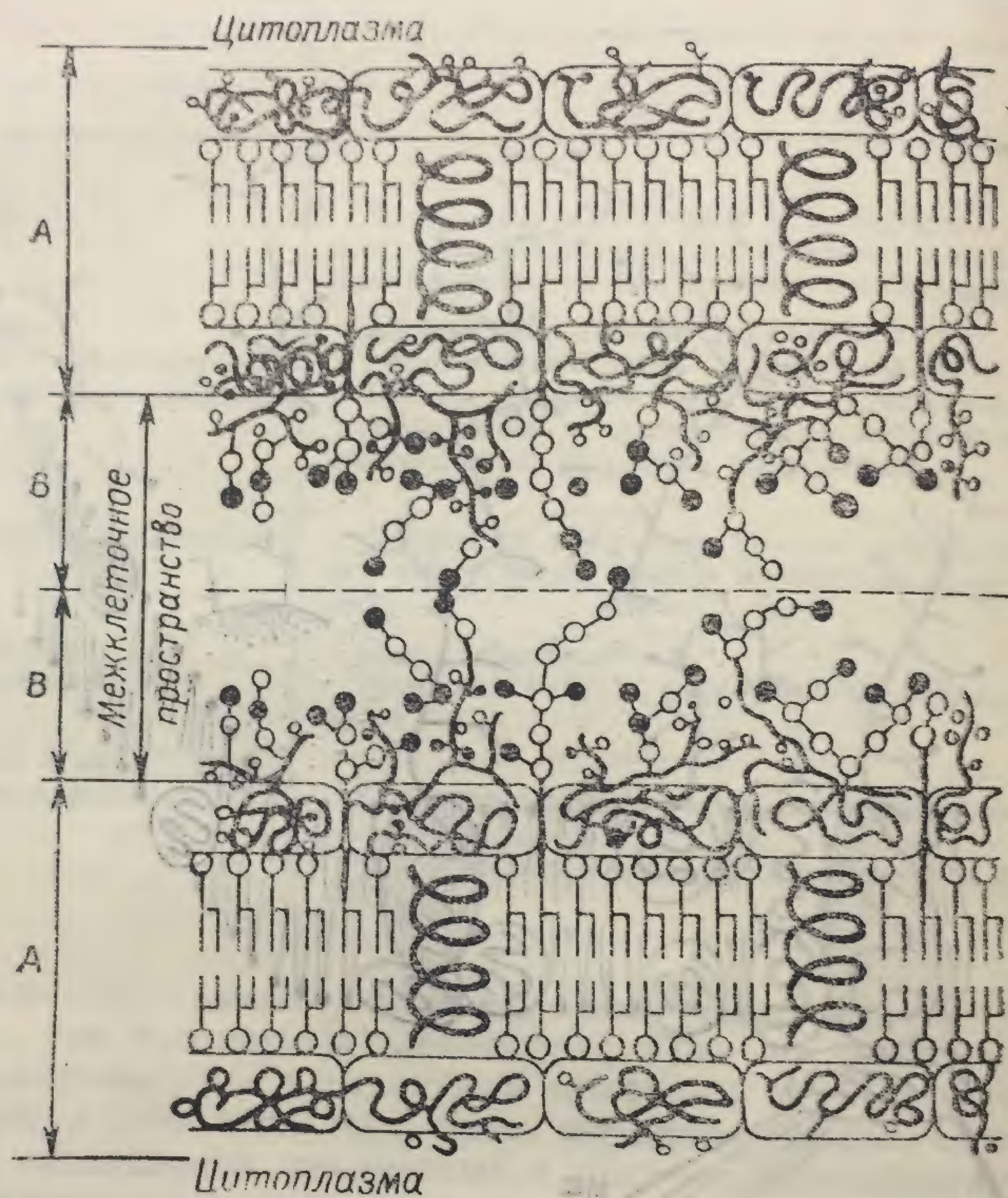


Рис. 12. Строение мембран двух прилегающих клеток (Pfenninger, 1972)

А — внутренняя зона, состоящая из белков и липидов; В — внешняя зона, содержащая олигосахаридные цепочки ганглиозидов и гликопротеинов.



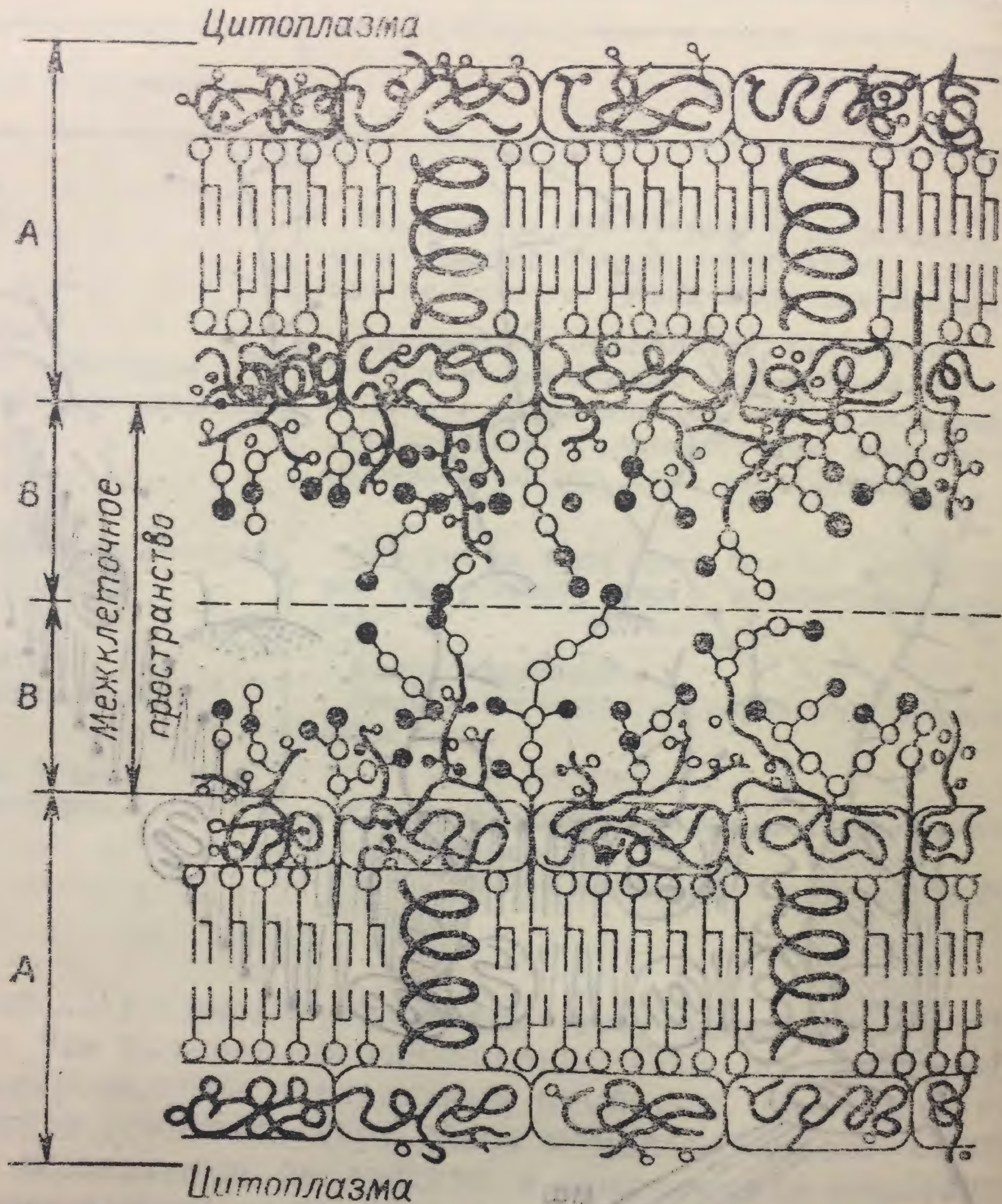


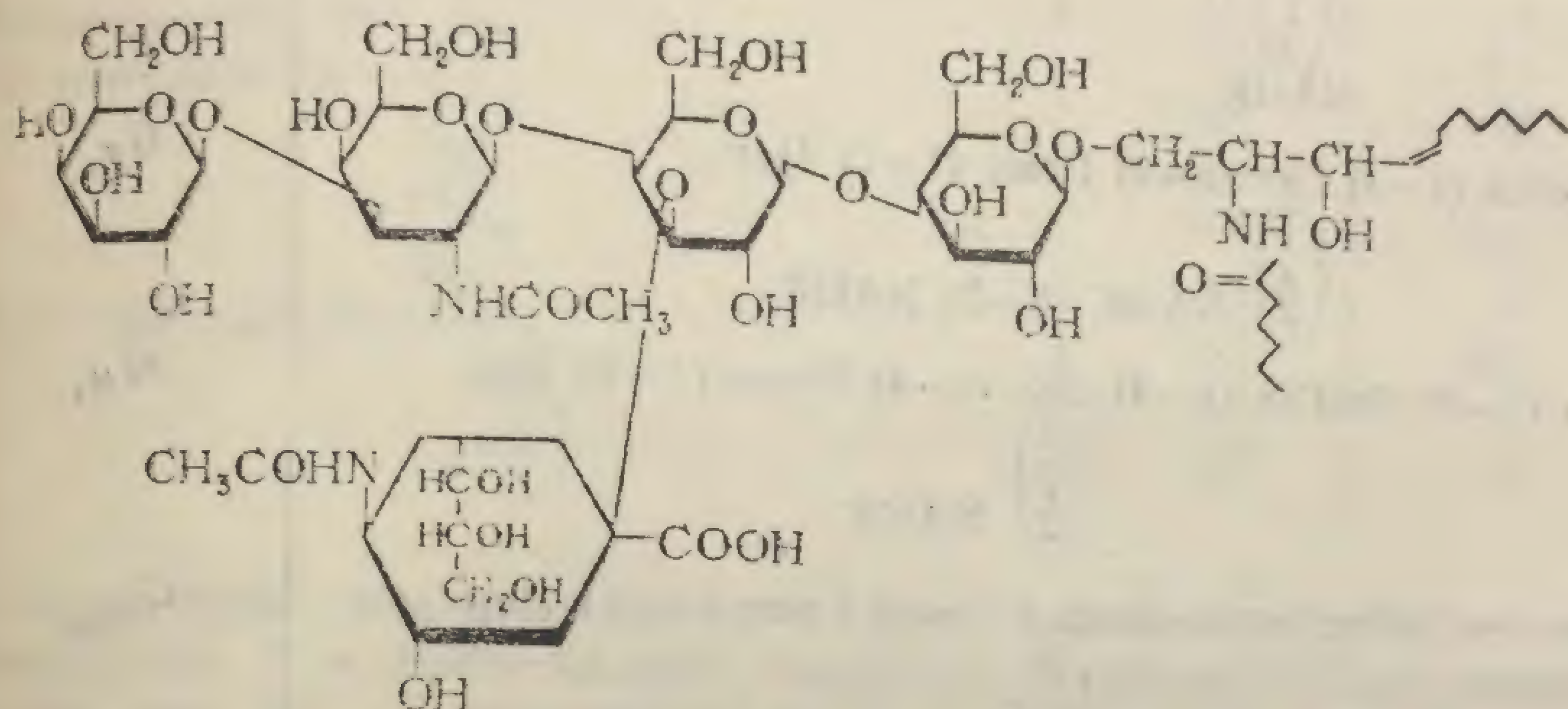
Рис. 12. Строение мембран двух прилегающих клеток (Pfenninger, 1972)

А — внутренняя зона, состоящая из белков и липидов; В — внешняя зона, содержащая олигосахаридные цепочки ганглиозидов и гликопротеинов.



## Состав и структура ганглиозидов головного мозга

Нервная ткань характеризуется необычайно разнообразным набором ганглиозидов. Ганглиозиды были открыты Кленком в 1941 г., но их точная химическая структура была выяснена только в 1963 г. Свеннерхолмом. Было установлено, что они являются многокомпонентными соединениями и содержат метаболически инертную керамидную часть, включающую сфингозин и жирную кислоту, и гидрофильную — быстро обмениваемую олигосахаридную часть, состоящую из глюкозы, галактозы, N-ацетилгалактозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты. Строение моносиалоганглиозида представлено ниже (Svennerholm, 1969):



Олигосахаридная часть необычайно изменчива по числу входящих компонентов: максимально их может быть 9, минимально — 2 (табл. 25). Вариации этих компонентов создают различные молекулярные виды ганглиозидов, которых в настоящее время выделено около 12 и которые четко делятся на моно-, ди-, три-, тетра- и пентасиалоганглиозиды по числу входящих молекул N-ацетилнейраминовой кислоты на керамидный остаток. В табл. 26 представлено содержание основных индивидуальных ганглиозидов в головном мозгу человека.

На этом многообразие этих соединений не кончается, поскольку все отмеченное выше отражает только первичную закономерную организацию. Ганглиозиды представляют собой высокомолекулярные соединения, их молекулярный вес колеблется от 180 000 до 800 000. Ганглиозиды способны образовывать мицеллы, включающие до 400 мономеров. Пока не установлено, состоят ли мицеллы из одного типа индивидуальных ганглиозидов или включают различные индивидуальные ганглиозиды в разных соотношениях, что должно увеличивать их гетерогенность. Образование гигантских молекул ганглиозидами позволяет увеличивать количество вещества при сохранении низ-



Таблица 25

Структура ганглиозидов мозга млекопитающих (Svennevholm, 1970)

Химическая структура	Символ по номенклатуре Свеннерхольма
<p>НАНК (2→3) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p>НАНК (2→8) НАНК (2→3) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p>НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math>              НАНК         </p> <p>НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК (8→2) НАНК         </p> <p>Гал (1→3) НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК         </p> <p>Гал (1→3) НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК (8→2) НАНК         </p> <p>Гал (1→3) НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК      <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК         </p> <p>Гал (1→3) НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК      <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК         </p> <p>Гал (1→3) НацГал (1→4) Гал (1→4) Глюк (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК (8→2) НАНК      <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК (8→2) НАНК         </p> <p>Гал (1→1) Цер</p> <p style="text-align: center;"> <math>\begin{pmatrix} 3 \\ \downarrow \\ 2 \end{pmatrix}</math> НАНК         </p>	<p><math>G_{M_1}</math></p> <p><math>G_{D_8}</math></p> <p><math>G_{M_2}</math></p> <p><math>G_{D_2}</math></p> <p><math>G_{M_1}</math></p> <p><math>G_{D_{1a}}</math></p> <p><math>G_{D_{1b}}</math></p> <p><math>G_{T_1}</math></p> <p><math>G_Q</math></p> <p><math>G_{M_4}</math></p>

Примечание. НАНК — N-ацетилнейраминная кислота; Гал — галактоза; Глюк — глюкоза; НацГал — N-ацетилгалактозамин; Цер — церамид (сфингозин+жирная кислота).



кой молярной концентрации, так что осмотическое давление в этом участке не меняется — свойство важное в мембранах. Церамидная часть молекулы ганглиозидов внедрена в белки интегральной зоны мембраны, с которыми она образует

Таблица 26

Содержание основных ганглиозидов мозга взрослого человека, %  
N-ацетилнейраминовой кислоты (Suzuki, 1972)

Ганглиозиды	Серое вещество	Белое вещество
Тетрасиалоганглиозид $G_Q$	3,9	4,8
Трисиалоганглиозид $G_{T_1}$	18,7	19,1
Дисиалоганглиозид $G_{D_{1b}}$	16,7	14,8
" $G_{D_2}$	3,0	1,6
" $G_{D_{1a}}$	38,0	36,2
" $G_{D_3}$	2,0	3,2
Моносиалоганглиозид $G_{M_1}$	14,2	18,8
" $G_{M_2}$	1,7	1,0
" $G_{M_3}$	1,0	1,0

гидрофобные связи, и потому плотно закреплена в этой части мембраны. С какими именно белками соединяется церамидная часть, зависит от жирнокислотного состава ганглиозидов. Разветвленная, гидрофильная олигосахаридная часть ганглиозидов ориентирована в межклеточное пространство или синаптическую щель, где она, как щупальцы, тянется к соседней мембране (рис. 12).

В настоящее время считают, что поверхностные гликолипиды, гликопротеины и гликозамингликаны составляют поверхностный матрикс — комплексную, динамичную, интегративную систему, где изменения во взаимодействии между компонентами приводят к глубоким изменениям матрикса как целого. От состава, организации и расположения этих поверхностных молекул зависят ионный обмен, проницаемость, иммунологические реакции, межклеточная адгезия, эндо- и экзоцитоз. Доказано, что морфогенетическая и тканеспецифическая агрегации эмбриональных клеток контролируются поверхностным матриксом, который является универсальным рецептором клетки для гормонов, медиаторов, антигенов, токсинов, наркотиков. Богатейшие возможности для такой всеобъемлющей рецепции заключены в разнообразии олигосахаридных структур поверхностных молекул. Молекулы ганглиозидов вносят существенный вклад во все перечисленные выше функции поверхностного матрикса.



## Метаболическая активность ганглиозидов

Метаболическая активность является показателем участия данной молекулы и ее составных частей в биохимических процессах, необходимых для осуществления той или иной функции. Ганглиозиды головного мозга характеризуются высокой метаболической активностью у взрослых и растущих животных (рис. 13).

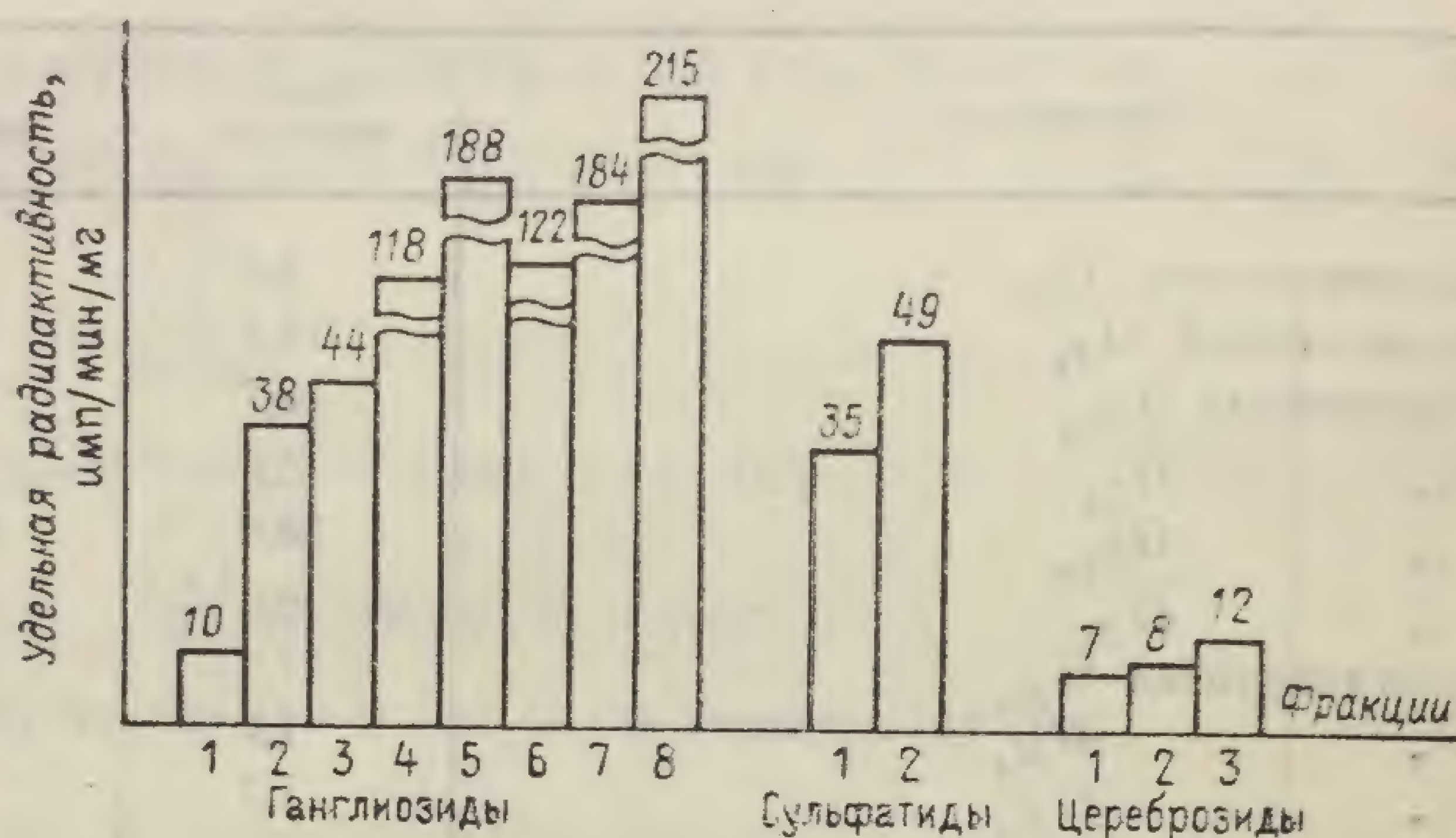


Рис. 13. Удельная радиоактивность отдельных фракций гликолипидов головного мозга взрослых крыс при введении  $2\text{-}^{14}\text{C}$ -ацетата.

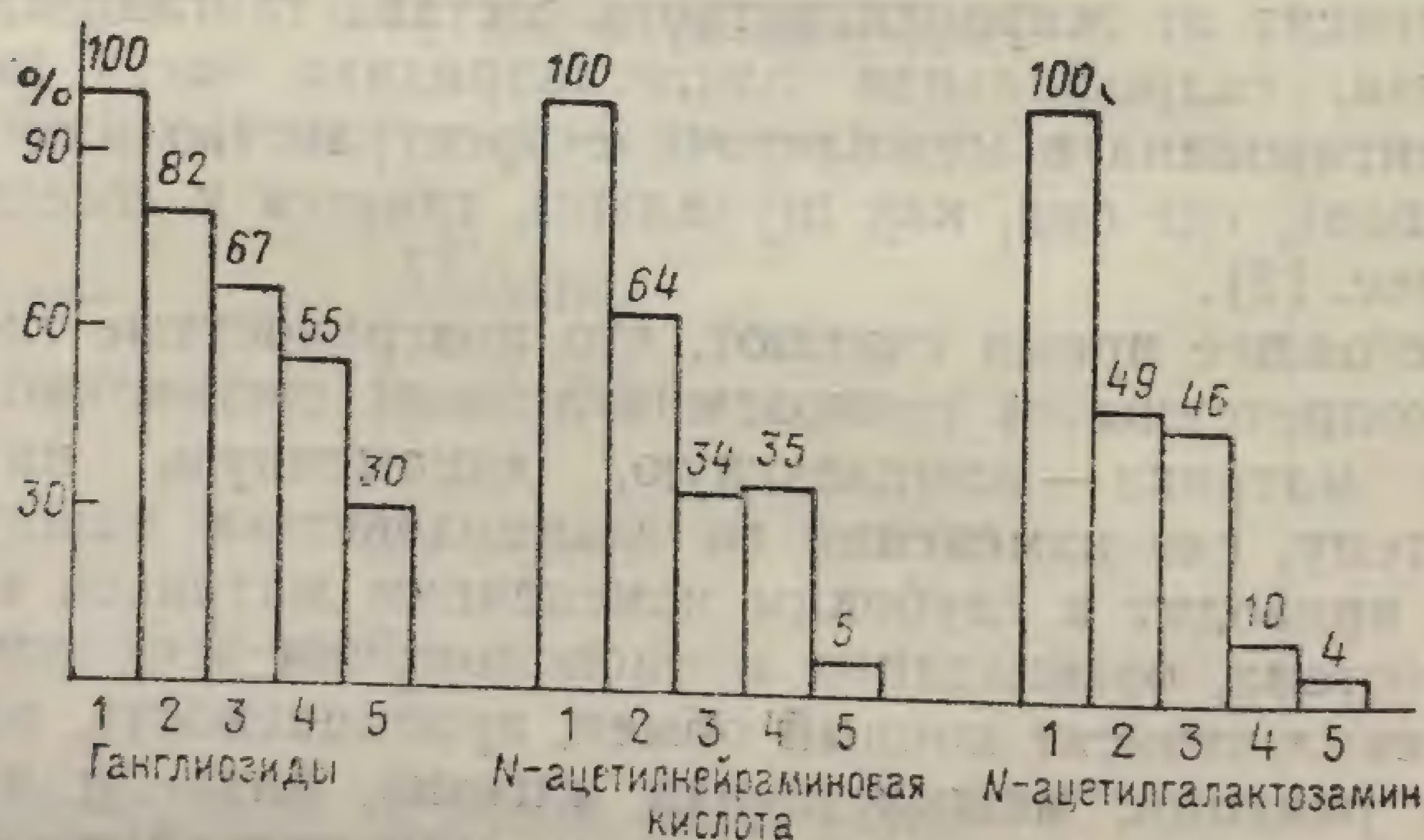


Рис. 14. Изменение интенсивности обмена ганглиозидов, N-ацетилнейраминовой кислоты и N-ацетилгалактозамина при нарушении энергетического обмена

1 — норма; 2 — 2,4-ДНФ; 3 — гипоксия; 4 — строфантин К; 5 — оубаин.

Ганглиозиды мозга являются активно обмениваемыми соединениями. По интенсивности обмена ганглиозиды мозга взрослых животных близки к интенсивно метаболизирующим



энергетическим веществам головного мозга. Метаболическая активность общих ганглиозидов резко снижается при введении оуабайна, строфантина К, 2,4-ДНФ — веществ, резко нарушающих энергетический обмен мозга (рис. 14). В экспериментах с краткосрочным введением радиоактивных предшественников С. Ю. Тумановой установлена различная метаболическая активность индивидуальных ганглиозидов мозга (см. рис. 13). Тем не менее в настоящее время очевидно, что функциональный динамизм обеспечивается не только различием метаболизма индивидуальных ганглиозидов, но и характерным обменом их составляющих компонентов.

Компоненты молекулы ганглиозидов, особенно ее керамидной и олигосахаридной частей, резко отличаются по интенсивности обмена. Керамидная часть, выполняющая структурно-каркасную роль в нейрональных мембранах, характеризуется слабой метаболической активностью: и сфингозин, и жирные кислоты имеют очень низкую удельную радиоактивность. Что же касается компонентов олигосахаридной части, то они обладают высокой метаболической активностью, в несколько раз превышающей активность керамидных компонентов. Наибольшая интенсивность обмена характерна для N-ацетилгалактозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты, причем удельная радиоактивность первого соединения почти в два раза превышает активность второго. Последняя почти в 10 раз выше активности глюкозы и галактозы.

Вещества, нарушающие энергетический обмен, резко снижают удельную радиоактивность N-ацетилнейраминовой кислоты и N-ацетилгалактозамина (см. рис. 14), например оуабайн уменьшает удельную радиоактивность N-ацетилгалактозамина и N-ацетилнейраминовой кислоты на 95 и 92% соответственно, а строфантин К — на 80 и 78% соответственно.

Данные о высокой метаболической активности специфических компонентов олигосахаридной части молекулы ганглиозидов дают основание предполагать их большую функциональную значимость.

### Функциональная роль ганглиозидов

За физиологическую активность ответственна в первую очередь олигосахаридная часть молекулы ганглиозидов, а именно анионные группы N-ацетилнейраминовой кислоты. Карбоксильные группы этой кислоты создают на поверхности отрицательный заряд. По расчетам Вольфа, на нейрон приходится  $5 \cdot 10^{15}$  молекул ганглиозидов, а число свободных карбоксильных групп, обусловленных только N-ацетилнейраминовой кислотой, равно  $10^{11}$ .

Было доказано, что способность ганглиозидов взаимодействовать с определенными вирусами, бактериальными токсинами, стрихнином, кураре пропорциональна числу карбоксильных



групп нейраминной кислоты. Блокирование этих групп приводит к потере всякой нейрональной активности. Установлено, что анионные группы моно-, ди- и трисиалоганглиозидов обладают различной способностью связывать катионы и поликатионы, причем основные типы ганглиозидов не адекватны в этом отношении. Так, трисиалоганглиозиды менее активны в связывании поликатионов, чем ди- и моносиалоганглиозиды.

Предполагают, что в нейрональных мембранах большое значение имеет цикл «тетра $\rightleftharpoons$ три $\rightleftharpoons$ ди $\rightleftharpoons$ моносиалоганглиозиды». В нейрональных мембранах находится нейраминидаза, способная осуществлять это превращение. Возможно, что это взаимное превращение играет немаловажную роль в поляризации и деполяризации мембран и, следовательно, в регуляции транспорта ионов. Была выявлена способность ганглиозидов изменять распределение ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в мозговой ткани. В транспорте натрия и калия ганглиозиды действуют согласованно с активными центрами аденозинтрифосфатазы, локализация которой точно совпадает с локализацией ганглиозидов. Более того, имеется тесная связь между нарастанием количества ганглиозидов, повышением активности  $\text{Na}^+$ - и  $\text{K}^+$ -активируемой аденозинтрифосфатазы и усилением трансмембранного переноса этих ионов.

Не менее важна способность ганглиозидов обратимо связывать ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , который играет важную роль в регуляции проницаемости мембраны и упрочнении ее структуры, поскольку явления поляризации и деполяризации нейрональных мембран самым тесным образом связаны с обменом  $\text{Ca}^{2+}$  на этих мембранах. Вытеснение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  из анионных групп ганглиозидов натрием или калием, возможно, является началом структурной перестройки в мембране, приводящей к увеличению проницаемости для катионов. Пока мало известно о деталях этого физиологически важного процесса, но установлено точно одно, что ионы  $\text{Ca}^{2+}$  должны проходить сквозь мембрану в тесной связи с ганглиозидами, которые связывают  $\text{Ca}^{2+}$  гораздо сильнее, чем фосфолипиды, причем в катион-протонном обмене ганглиозиды в 20 раз эффективнее, чем ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ .

Доказано, что ганглиозиды являются рецепторными молекулами мембран для токсинов и вирусов, поэтому допустимо, что они могут служить постоянными рецепторами для внутренних метаболитов мозга. Имеются данные о связи ганглиозидов с ацетилхолином, норадреналином, серотонином и ГАМК и о роли ганглиозидов в передаче и освобождении ацетилхолина в синаптических мембранах. Энергия, необходимая для освобождения ацетилхолина, может быть получена из процесса поляризации и деполяризации мембраны, который так тесно связан с ганглиозидами. Показана идентичность распределения ГАМК и ганглиозидов. Возможно, что структура известных ганглиозидов специализирована для рецепции определенного



медиатора. При этом сродство моно-, ди-, три-, тетра- и пента-сигналоганглиозидов к различным медиаторам различно, что в определенной мере может объяснить большое разнообразие молекулярных типов ганглиозидов. Например, доказано, что к серотонину наиболее чувствителен дисигналоганглиозид  $G_D$ , а к холерному токсину —  $G_{M1}$ . Набор индивидуальных ганглиозидов-рецепторов может быть уникальным не только для каждого типа клеток, но и для каждой индивидуальной клетки.

Оказалось, что ганглиозиды центральной нервной системы обладают отчетливо выраженной химической специфичностью, чтобы действовать как антигены в классическом иммунохимическом смысле. Это свойство наделяет ганглиозиды способностью иммунохимического узнавания, благодаря которому многоклеточные организмы поддерживают структурную и морфологическую целостность клеток. Процесс узнавания необычайно специфичен для нервных клеток. В самой общей форме — это способность узнавать, является ли соседний нейрон партнером, своего он типа или нет. Находясь в межклеточном пространстве, ганглиозиды определяют контактные свойства между нейронами, глией и нейронами. Возможно, что именно ганглиозиды вносят свою долю в образование ансамблей нейронов, устойчиво связанных друг с другом. Образование таких ансамблей важно для хранения и передачи информации. Специфическое макромолекулярное узнавание лежит в основе синаптических связей, а также обучения и памяти.

В последние годы убедительно доказано, что опухолевое перерождение, вызванное вирусами или канцерогенами, приводит к изменению поверхностных гликолипидов. В мембранах опухолевых клеток меняется количество сиаловой кислоты, происходит упрощение гликолипидного набора, накопление некоторых уникальных ганглиозидов, встречающихся в норме в следовых количествах. Результатом этого является недостаток контактно-чувствительных связей, что может быть вызвано блокированием ферментов синтеза ганглиозидов или увеличением активности гликозилгидролаз. Изменение числа и структуры поверхностных ганглиозидов приводит к нарушению иммунохимической специфичности опухолевых клеток, что вызывает различные аномалии поверхностной функции мембран. Происходит потеря контактного ингибирования клеточного деления и движения, что приводит к неконтролируемому росту клеток. При нарушении клеточной коммуникации появляется автономность опухолевых клеток, глухость их к регуляторным воздействиям, уменьшается клеточная адгезия, у клеток возникают инфильтративные и метастатические свойства.

Получены факты, доказывающие, что состав и метаболизм ганглиозидов поверхности изменяется с клеточным циклом. Предполагают, что на последних этапах митоза происходит включение специфических гликолипидов в плазматическую мембрану.



Это включение (вставление) является для клетки своего рода сигналом, вступать ли ей в новый раунд деления или оставаться в состоянии покоя.

Каким образом так называемый недостаток контактного накопления гликолипидов и гликопротеинов коррелирует с изменением регуляции клеточного роста, потерей контактного ингибирования и изменением мембранного транспорта — сказать пока очень трудно. Поскольку ганглиозиды являются рецепторами нейрональных мембран, то они должны быть связаны через определенные типы трансдукторных молекул с аденилциклазой. Отмечен параллелизм распределения в нейрональных мембранах ганглиозидов, аденилциклазы и фосфодиэстеразы. Предполагают, что конформационные изменения поверхностных олигосахаридных структур затрагивают активность аденилциклазы и фосфодиэстеразы, а через них уровень внутриклеточного молекулярного эффектора цАМФ, определяющего активность протеинкиназ, в частности гистонкиназы, которая регулирует синтез яДНК. Из этих во многом еще неясных взаимосвязей отчетливо проступает участие поверхностных гликолипидов в социальном поведении клеток.

Способность ганглиозидов специфически контактировать и подвергаться структурно-химической перестройке на поверхности нейрональных мембран может оказаться весьма существенной в формировании сети нейронов, включающих и направляющих передачу нервного импульса. Образование функциональных сетей нейронов исключительно важно для хранения и передачи информации.

Богоч на основании аналитических данных предположил, что ганглиозиды наряду с гликопротеинами представляют собой соединения, кодирующие эмпирический опыт в головном мозгу. По его мнению, ганглиозиды отвечают всем требованиям кодирующих молекул: они локализованы в самых возбудимых мембранах нервной системы, им свойственна функция узнавания и специфического взаимодействия самого высокого порядка, они гетерогенны, а их трехмерная организация с другими мембранными компонентами обеспечивает почти неограниченные возможности структурных вариаций, поэтому они обладают большой информационной емкостью. Информационная емкость этих молекул меняется с выработкой поведенческих реакций организма, навыков и обучением, а также под действием веществ, влияющих на память, например пуромидина.

Изменение концентрации и структуры кодирующих молекул должно приводить к патологии нервной системы или, как минимум, к ухудшению памяти. Этому требованию ганглиозиды отвечают идеально. Без полного набора индивидуальных ганглиозидов невозможна нормальная функциональная деятельность головного мозга. Несомненность этого положения доказывается нейролипидозами, или, точнее, ганглиозидозами —



наследственными заболеваниями, характеризующимися распадом психических функций вплоть до идиотии, дегенерацией нейронов, демиелинизацией, прогрессирующим депонированием ганглиозидов в цитоплазме нейронов.

### Ганглиозидозы

В течение 100 лет была известна только одна болезнь, сопровождающаяся накоплением ганглиозидов — болезнь Тей — Сакса. Второе заболевание с врожденной ошибкой обмена ганглиозидов — генерализованный ганглиозидоз — было открыто в 1965 г. За последние 10 лет были описаны три других ганглиозидоза. Таким образом, в настоящее время описано 5 ганглиозидозов, три из них включают накопление моносиалоганглиозида  $G_{M2}$ , а два — накопление моносиалоганглиозида  $G_{M1}$ . Описанные ганглиозидозы сопровождаются дефектом лизосомальных ферментов распада ганглиозидов, что приводит к тому, что в ущерб нормальному набору индивидуальных ганглиозидов накапливается какой-то один ганглиозид. Эти заболевания сопровождаются нейрональным липидозом с накоплением моносиалоганглиозидов и структурно-связанных гликолипидов, гликопротеинов, мукополисахаридов.

Все ганглиозидозы характеризуются заметным накоплением в нейронах «мембранных цитоплазматических тел». Цитоплазма нейронов при этом раздута и растянута, ядра перемещены к периферии. При электронном микроскопировании хорошо видны осмофильные цитоплазматические мембранные тела самой различной формы с поперечной исчерченностью толщиной 50 Å. В этих телах наблюдается интенсивная фосфатазная активность, они содержат много липидов, мало белка: в расчете на сухой вес — 36% ганглиозидов, 12,8% фосфолипидов, 27% холестерина, 4% цереброзидов.

Ганглиозидоз- $G_{M2}$  (болезнь Тей — Сакса). При этом заболевании уровень общих ганглиозидов увеличен в 4 раза, количество моносиалоганглиозида  $G_{M2}$  увеличено в сотни раз, и он составляет 70—80% от всех ганглиозидов мозга. Содержание этого ганглиозида в висцеральных органах увеличивается несущественно, но пропорция  $G_{M2}$  выше нормы. Заболевание сопровождается дефектом лизосомального фермента — N-ацетилгалактозаминидазы.

Ганглиозидоз- $G_{M2}$  (болезнь Сандхоффа). Уровень моносиалоганглиозида  $G_{M2}$  при этой форме заболевания также превышает норму в сотни раз, но одновременно накапливается асиалоганглиозид  $G_{M2}$ , уровень которого в 100 раз выше нормы. При этой форме ганглиозидоза в висцеральных органах происходит накопление глобозида (церамид-глюкоза-галактоза-галактоза-N-ацетилгалактозамин). В печени его уровень в 190, в селезен-



ке в 77, а в почках в 9 раз выше нормы. Дефект фермента N-ацетилгалактозаминидазы.

Ганглиозидоз- $G_{M2}$  (ювенильный тип). При этой форме ганглиозидоза уровень  $G_{M2}$  увеличивается в мозгу в 40—90 раз, несколько меньше, чем в двух предыдущих случаях. В мозгу накапливается асиалоганглиозид  $G_{M2}$ , количество которого в 5—10 раз выше нормы. В висцеральных органах наблюдается некоторое увеличение количества  $G_{M2}$ . Дефект фермента N-ацетилгалактозаминидазы.

В последние годы применение более совершенных энзиматических методов много прояснило, но многое и усложнило в патогенезе этих заболеваний. Оказалось, что существуют две формы фермента N-ацетилгалактозаминидазы с различной электрофоретической подвижностью и температурной устойчивостью: кислая форма А и основная В. Тогда при варианте 0 обе формы фермента отсутствуют. При варианте В отсутствует форма фермента А, это как раз и есть типичный случай классической болезни Тей — Сакса. Вариант А наблюдается в том случае, когда N-ацетилгалактозаминидаза А неактивна с синтетическими субстратами, сюда относится ювенильный тип ганглиозидоза- $G_{M2}$ . Вариант АВ характеризуется пониженной активностью обеих форм фермента, причем ферменты хорошо расщепляют синтетические субстраты и неактивны с натуральными субстратами.

Ганглиозидоз- $G_{M1}$  (генерализованный). Накапливающимся ганглиозидом в этом случае является  $G_{M1}$ . Кроме того, в мозгу в 10 раз выше уровень  $G_{M2}$ , и там же накапливается асиалоганглиозид  $G_{M1}$ . Дефекту подвержен фермент  $\beta$ -галактозидаза.

Ганглиозидоз- $G_{M1}$  (ювенильный тип). При этой форме заболевания наблюдается церебральное накопление ганглиозида  $G_{M1}$  и асиалоганглиозида  $G_{M1}$ , почти как в генерализованном ганглиозидозе, однако у больных этим типом не наблюдается накопления  $G_{M1}$  в висцеральных органах. Дефекту подвержен лизосомальный фермент  $\beta$ -галактозидаза.

Все сказанное выше свидетельствует о том, что сложная молекула ганглиозидов и в своей структуре и в своем метаболизме имеет богатейшие потенциальные возможности для выполнения функции в ЦНС.



## Глава 5

### МИЕЛИН

Природа миелиновых оболочек привлекала внимание, начиная с XVII в. Но только в последние 25 лет применение электронной микроскопии, дифракции рентгеновских лучей, субклеточного фракционирования и новых методов изучения белков и липидов позволило получить фундаментальные знания о структуре, химии и биохимии миелина.

#### 5.1. ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ МИЕЛИНА

Миелиновые оболочки являются доминирующим элементом белого вещества, составляя 50% его сухого веса, и имеют самое высокое содержание липидов, низкое содержание белка и воды. Миелин довольно дегидратированная структура, в нем около 40% воды (немиелиновая часть белого вещества содержит 80% воды). Твердый остаток миелина в среднем содержит 70—80% липидов и 20—30% белка. Липиды миелина ЦНС содержат 25—28% холестерина, 27—30% галактосфинголипидов, 40—45% фосфолипидов. В табл. 27 представлены данные по химическому составу миелина.

Специфическими компонентами миелина являются цереброзиды, сульфатиды и протеолипидный белок; сфингомиелин и плазмалогены — преимущественные компоненты миелина; холестерин и фосфатидилсерин являются основными миелиновыми липидами; фосфатидилхолин — немиелиновый липид. Вообще, в миелине нет только кардиолипина из липидов, представленных в мозгу. Справедливо и другое утверждение: нет таких миелиновых липидов, которые не были бы найдены в других субклеточных фракциях мозга.

Состав миелина центральной нервной системы различных животных различен. Например, миелин крысы имеет меньше сфингомиелина, чем миелин быка или человека. В филогенети-



ческой шкале эти различия еще более увеличиваются. Миелин амфибий и рыб содержит меньше сфинголипидов и больше глицерофосфолипидов, чем миелин млекопитающих. Миелин периферической нервной системы содержит меньше цереброзидов и сульфатидов и значительно больше сфингомиелина, чем миелин центральной нервной системы.

Таблица 27

Состав миелина центральной нервной системы (Norton, 1975)

Компонент	Миелин			Белое вещество	Серое вещество
	Человек	Бык	Крыса	Человек	Человек
Белок	30,0	24,7	29,5	39,0	55,3
Липиды	70,0	75,3	70,3	54,9	32,7
Холестерин	27,7	28,1	27,3	27,5	22,0
Цереброзиды	22,7	24,0	23,7	19,8	5,4
Сульфатиды	3,8	3,6	7,1	5,4	1,7
Общие галактолипиды	27,5	29,3	31,5	26,4	7,3
Общие фосфолипиды	43,1	43,0	44,0	45,9	69,5
Фосфатидилэтаноламин	15,6	17,4	16,7	14,9	22,7
Фосфатидилхолин	11,2	10,9	11,3	12,8	26,7
Сфингомиелин	7,9	7,1	3,2	7,7	6,9
Фосфатидилсерин	4,8	6,5	7,0	7,9	8,7
Фосфатидилинозитол	0,6	0,8	1,2	0,9	2,7
Плазмалогены	12,3	14,1	14,1	11,2	8,8

\* Белки и общие липиды выражены в % к сухому весу, а отдельные липиды — в % к общим липидам.

Доказано, что полифосфоинозитиды мозга (ТФИ и ДФИ) локализованы исключительно в миелине и по праву имеют статус маркеров миелина. ТФИ составляют 4—6% от общего фосфора миелина, а ДФИ — 1—1,5%. Эти липиды характеризуются высокой скоростью обмена, тогда как отличительная черта миелина — его низкая метаболическая активность.

Для миелина характерен очень низкий уровень ганглиозидов, они составляют 40—50 мкг N-ацетилнейраминовой кислоты на 100 мг миелина (около 0,15% от общих липидов). Из-за незначительных количеств ганглиозидов в миелине их используют как индикатор чистоты миелина. Качественный состав ганглиозидов миелина отличен от ганглиозидов целого мозга. Моносиалоганглиозид  $G_{M1}$  составляет 80—90% от общих ганглиозидов миелина, причем  $G_{M1}$  миелина имеет метаболические характеристики, сходные с миелиновыми липидами, а не с  $G_{M1}$



целого мозга. В миелине ЦНС человека обнаружен другой ганглиозид — G<sub>7</sub>-сиалилгалактозилцерамид, который также специфичен миелину. Жирнокислотный состав этого ганглиозида подобен галактозилцерамиду миелина, содержащему преимущественно длинноцепочечные нормальные и оксикислоты. Предстоит выяснить, какую роль играют ганглиозиды в необычной структуре миелиновых мембран, являются ли они просто минорными составными частями миелина или поддерживают его структуру.

В миелине сосредоточено 94% плазмалогенов от общего количества их в целом мозгу, в результате чего длинноцепочечные жирные кислоты миелина характеризуются очень высокой пропорцией альдегидов, они составляют около 1/6 от общих жирных кислот миелина. В табл. 28 и 29 приводится состав

Таблица 28

Содержание жирных кислот фосфолипидов миелина, %  
(O'Brien e. a., 1967)

Жирные кислоты	Фосфатидил-					
	этаноламин		серин		холин	
	ЦНС	ПНС	ЦНС	ПНС	ЦНС	ПНС
14:0	0,4	1,2	0,3	1,4	0,4	2,9
16:0	6,5	21,0	2,6	7,2	40,1	40,0
16:1	0,4	1,8	0,6	1,3	0,8	Следы
18:0	7,7	5,0	40,0	17,6	6,1	11,0
18:1	72,5	42,0	43,3	63,5	51,6	36,0
18:2	Следы	1,1	Следы	0,6	0,6	5,2
20:1	3,9	4,0	3,6	2,7	—	2,0
20:4	1,6	2,0	4,7	Следы	0,4	0,7
22:5 ω 6	4,6	—	2,3	—	—	—
22:5 ω 3	0,5	9,5	Следы	1,2	—	—
22:6	0,6	5,7	2,3	0,7	Следы	—

Таблица 29

Содержание альдегидов жирных кислот в фосфолипидах миелина, %  
(O'Brien e. a., 1967)

Альдегиды жирных кислот	Фосфатидаль-			
	этаноламин		серин	
	ЦНС	ПНС	ЦНС	ПНС
16:0				
18:0	29,0	19,0	28,5	25,3
18:1	21,0	34,2	17,5	35,9
Альдегиды в %	41,7	34,1	43,0	17,1
	50	39	37	15



жирных кислот и альдегидов фосфолипидов миелина. Видно, что преобладающими кислотами в фосфолипидах миелина являются 18:1, 16:0 и 18:0. Особенно высокое содержание пальмитиновой кислоты характерно для фосфатидилхолина миелина как ЦНС, так и ПНС. Из табл. 28 и 29 наглядно видны также различия в жирнокислотном составе отдельных представителей фосфолипидов и гликолипидов миелина и различия в жирнокислотном составе липидов миелина центральной и периферической нервной системы. Так, цереброзиды миелина ЦНС содержат только 18% нормальных и 82% оксикислот, тогда как цереброзиды миелина ПНС содержат 65% нормальных и 35% оксикислот. Иное соотношение нормальных и оксикислот наблюдается в сульфатидах миелина ЦНС и ПНС (табл. 30).

Таблица 30

Состав жирных кислот в цереброзидах, сульфатидах, сфингомиелине миелина ЦНС и ПНС, % (Eichberg e. a., 1969)

Жирные кислоты	Цереброзиды				Сульфатиды				Сфингомиелин	
	ЦНС		ПНС		ЦНС		ПНС		ЦНС	ПНС
	норм.	окси-	норм.	окси-	норм.	окси-	норм.	окси-		
14:0	—	0,8	—	2,2	—	2,1	—	1,0	—	—
16:0	2,0	0,2	7,2	2,3	8,5	—	5,2	1,6	5,4	5,0
18:0	7,8	0,6	7,2	21,2	3,9	3,4	5,5	13,8	33,6	12,0
18:1	3,2	—	3,2	—	1,3	—	2,2	—	0,4	0,2
20:0	1,1	1,2	4,0	1,4	1,3	1,0	1,0	1,8	0,5	3,3
22:0	1,4	12,0	10,8	13,2	1,4	13,3	10,3	14,1	0,8	15,0
22:1	—	—	—	—	—	—	—	—	0,2	1,0
23:0	2,9	12,8	6,8	8,0	1,2	10,0	5,8	5,4	1,4	6,5
23:1	—	—	—	—	—	—	—	—	0,6	0,2
24:0	14,2	32,3	33,5	39,3	14,7	40,0	40,3	43,6	8,0	22,0
24:1	38,8	24,0	23,6	8,0	42,7	9,6	28,1	12,9	40,0	31,0
25:0	7,9	4,5	Следы	3,8	6,1	3,5	Следы	4,8	1,8	1,0
25:1	12,9	3,2	Следы	—	7,3	5,0	Следы	—	3,6	1,0
26:0	0,9	2,1	—	—	2,0	1,7	—	—	—	—
26:1	5,4	7,0	—	—	8,3	2,3	—	—	2,4	—
Итого в %	18	82	65	35	75	25	68	32		

В составе миелина мыши был обнаружен новый класс нейролипидов — алканы, содержащие от 21 до 35 углеродных атомов, с приблизительно равным количеством гомологов с четным и нечетным числом углеродных атомов. В очищенном



миелине их содержание составляет 7 мг/г сухого веса, а в миелине мутантных мышей quaking с дефектом образования миелина — только 2 мг/г сухого веса. Эти же мутанты имеют очень низкий уровень длинноцепочечных жирных кислот. Предполагают, что алканы — абсолютно гидрофобные вещества — могут играть большую роль в определении физико-химических свойств миелина.

Ионов  $\text{Na}^+$  в миелине столько, что он может связать 4% липидного фосфора, а ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  достаточно, чтобы связать соответственно 2 и 12% липидного фосфора. Установлено, что примерно 25% кальция связано с липидными компонентами миелина, а 75% — с нелипидной частью миелина. Точно определить содержание ионов в миелине трудно, поскольку при выделении миелина происходит потеря ионов, поэтому приведенные выше значения несколько занижены.

В миелине обнаружены гликозамингликаны, скорее всего в форме протеогликанов, но в литературе пока нет данных об их составе и локализации.

## 5.2. ХАРАКТЕРИСТИКА БЕЛКОВ МИЕЛИНА

Белки миелина нерастворимы в воде, за исключением «основного» белка, но они растворимы в феноле, уксусной кислоте, в буферах, содержащих додецилсульфат натрия. В миелине обнаружено три класса белков: классический протеолипид Фолча, который составляет 30—50%; кислоторастворимый белок — протеолипид, составляющий 20%; «основной» белок, проявляющий энцефалитогенные свойства и составляющий 30—35%. В составе миелина был обнаружен еще один протеолипид, который Агравалом был обозначен ДМ-20, и, кроме того, миелин содержит 15—20 различных высокомолекулярных белков. Как правило, миелин периферической нервной системы имеет более высокое отношение липид/белок, чем миелин центральной нервной системы, и содержит мало протеолипидного белка.

Протеолипид Фолча растворим в смеси хлороформа и метанола (2:1). Белок протеолипида непрочен связан с фосфатидами, цереброзидами, иногда с холестерином, после удаления которых в протеолипиде остается еще 5—15% кислых липидов (фосфатидилсерина, сульфатидов, фосфоинозитидов), прочно связанных с белком ионной связью. Белковая часть — апопротеин (мол. вес 34 000—36 000) — полимер, растворимый в воде и солевых растворах, устойчив к действию трипсина и других протеолитических ферментов, кроме проназы. Он содержит около 40% полярных и 60% неполярных аминокислот. Протеолипид Фолча обладает низкой обменяемостью как у молодых, так и взрослых животных. У мутантных мышей quaking с нарушенным образованием миелина синтез протеолипида

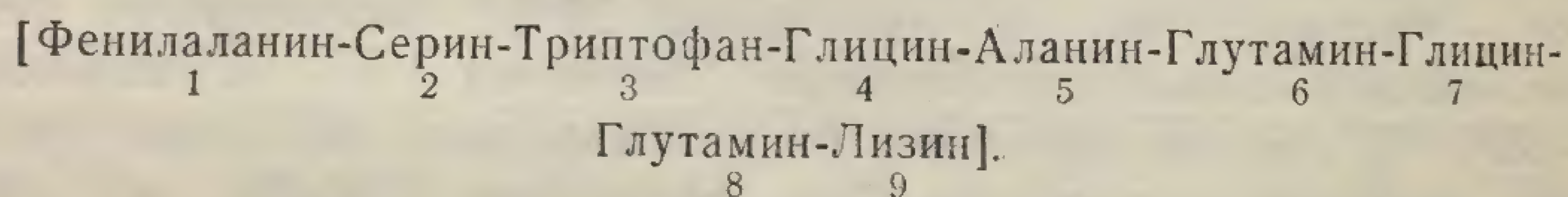


Фолча идет с нормальной скоростью, но его включение в миелиновую мембрану заторможено.

Кислый белок Вольгрема (по имени его открывателя) не растворим в воде и в нейтральной смеси хлороформа и метанола. Он содержит 53% полярных и 47% неполярных аминокислот. Белок Вольгрема является исключительно олигодендриглиальным белком и включается в миелин в процессе миелинизации.

«Оснóвный» белок водорастворим, чувствителен к действию трипсина. Мол. вес 18 000, содержит 54% полярных и 46% неполярных аминокислот, не содержит цистеина и имеет 1 моль триптофана на 1 моль белка, чем отличается от классического протеолипида Фолча, в котором имеется высокое содержание цистеина, метионина, триптофана. Изоэлектрическая точка его выше (рН 12). В миелиновой мембране он связан с липидами главным образом за счет ионного взаимодействия.

Этот белок антиген, индуцирующий экспериментальный аллергический энцефаломиелит — заболевание, в некоторой степени сходное с множественным склерозом и сопровождающееся демиелинизацией. Установлено, что только очень небольшая часть оснóвного белка ответственна за энцефалитогенную активность. Исследования показали, что пептид из 9 аминокислотных остатков вокруг единственного триптофана, приведенный ниже, заключает в себе почти всю энцефалогенную активность оснóвного белка:



Замена аминокислот в участке между триптофаном и глутамином не существенна в проявлении энцефалитогенных свойств. Правда, обнаружены еще два активных участка, не содержащих триптофана. Один из них активен при введении кроликам, и не активен при введении морским свинкам, второй активен при введении обезьянам, но не активен у кроликов и морской свинки.

В «оснóвном» белке человека, разделенном на три пептидных фрагмента — пептид L (остатки 1—116), пептид T (остатки 117—170) и пептид Y (остатки 154—170), только фрагмент T обладает способностью вызывать экспериментальный аллергический энцефаломиелит. В отличие от других белков миелина он подвергается очень быстрому фосфорилированию. «Оснóвный» белок является субстратом цАМФ-зависимой протеинкиназы, которая локализована в том же месте на поверхности мембраны, что и «оснóвный» белок. Хотя в «оснóвном» белке имеются многочисленные остатки серина и треонина, только некоторые из них фосфорилируются.



В общей функции миелина фосфорилированию «основного» белка придается определенное значение. Поскольку «основ-»  
ный» белок миелина появляется в нервной ткани непосредст-  
венно перед началом активной миелинизации, предполагают,  
что он играет важную роль в иницировании этого процесса.  
«Основной» белок периферической и центральной нервной  
системы различен по составу. В ПНС обнаружено 2 «основ-»  
ных» белка, один из них сходен с таковым белком ЦНС, но в  
нем менее выражены щелочные свойства и содержится меньше  
истидина, аргинина, глицина и тирозина, но больше валина  
и изолейцина. Второй «основной» белок ПНС, обозначенный  
BF (Уетига е. а., 1972) или Р-2 (Brostoff е. а., 1974), явля-  
ется уникальным белковым компонентом миелина ПНС. Это  
основной глобулярный белок с блокированным  $\text{NH}_2$ -терминаль-  
ным концом. Он содержит 120—130 аминокислотных остатков,  
из них 2 остатка цистеина, один из которых расположен близ-  
ко к метионину, 3 молекулы метионина и 2 молекулы трипто-  
фана. Особенностью этого белка является присутствие области,  
богатой изолейцином.

Следует отметить, что исследования миелина выявили хи-  
мическую гетерогенность его белковых компонентов. В различ-  
ных отделах центральной и периферической нервной системы  
образуются различные молекулярные типы миелина, отличаю-  
щиеся не только количественным соотношением белка Фолча  
и «основного» белка, но и физико-химическими свойствами.  
Так, в миелине спинного мозга общее содержание белка (13%)  
значительно ниже, чем в миелине головного мозга, и почти  
вдвое меньше белка Фолча, но зато имеется специфический бе-  
лок, который отсутствует в головном мозгу. В миелине перифе-  
рической нервной системы, по-видимому, совсем нет протеоли-  
пида Фолча, который замещен другим трипсин-резистентным  
гистоноподобным белком, известным как нейрокератин.

Существование химической гетерогенности как липидного,  
так и белкового состава миелина позволяет предположить, что  
олигодендроциты и шванновские клетки в разных отделах  
центральной и периферической нервной системы способны фор-  
мировать различные молекулярные типы миелина, отличаю-  
щиеся не только молекулярной архитектурой, но и функцио-  
нальными и иммунохимическими свойствами.

Доказано, что некоторые из 15—20 высокомолекулярных  
белков, обнаруженных в миелине, обладают ферментативной  
активностью. Вообще, для миелина характерна крайне малая  
ферментативная активность, за исключением нескольких фер-  
ментов. Например, в миелине присутствует аденозин-2,3-цикли-  
ческая нуклеотид-3-фосфогидролаза, которая считается маркер-  
ным ферментом миелина. Увеличение активности этого фер-  
мента происходит параллельно процессу миелинизации, низкий  
уровень его активности обнаружен у двух мутантных линий



мышей quaking и jumper, характеризующихся нарушением процесса миелинизации.

Почти исключительно в миелине локализована гидролаза эфиров холестерина, которая является липидактивируемым ферментом. Фосфатидилсерин стимулирует его активность, фосфатидилэтаноламин немного ингибирует, а лизолецитин сильно ингибирует активность этой гидролазы. Нейтральные гликолипиды (галактозил-, глюкозил-, дигалактозилцерамид) выступают в качестве активаторов гидролазы эфиров холестерина, а кислые гликолипиды (сульфатиды и ганглиозиды) являются ингибиторами. Такое же воздействие на активность этой гидролазы оказывают и насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.

Недавно в очищенных препаратах миелина была найдена карбоангидраза, которая, как предполагают, поддерживает низкое содержание воды в миелине. Этот фермент имеет мол. вес 30 000, характеризуется высоким содержанием аспартата, глутамина, серина, глицина, лизина и только 1 молекулой цистеина и имеет сходный изоферментный спектр с карбоангидразой мозга. Активность миелиновой карбоангидразы постоянна между 16 и 90 днями постнатального развития, тогда как активность карбоангидразы мозга за этот период увеличивается почти в 4 раза. Эти данные дают основание предполагать, что активность миелиновых ферментов регулируется независимо от других образований мозга. Для миелина характерен также высокий уровень пептидаз.

Гликопротеины миелина ЦНС и ПНС различны по составу. Миелин ЦНС обогащен гликопротеином с мол. весом 100 000, который сульфатирован и обладает способностью связывать конканавалин А. Этот гликопротеин миелина локализован на внешней мембранной поверхности интактных миелиновых оболочек и тесно связан с олигодендроглиальными плазматическими мембранами. Локализация углеводсодержащих макромолекул на внешней мембранной поверхности миелина заставляет предполагать, что такие комплексные молекулы могут играть важную роль в межклеточных взаимодействиях в процессе миелинизации и в поддержании структуры миелина.

Из миелина ПНС различных организмов (голубя, крысы, морской свинки, кролика, курицы, быка, человека) выделены два основных гликопротеина. Один, обозначенный BR, имеет мол. вес 28 000, второй, обозначенный PASII, имеет мол. вес 13 000, оба гомогенны при электрофорезе в додецилсульфате натрия и содержат  $\text{NH}_2$ -терминальные аминокислоты — изолейцин и метионин соответственно. Белок BR, видимо, идентичен белку PO, изолированному из седалищного нерва кролика, белок же PASII уникален для миелина ПНС. Белок BR содержит глюкозамин, маннозу, галактозу, фукозу и сиаловую кислоту, белок PASII — глюкозу, глюкозамин, галактозу, маннозу,



фукозу. Эти белки появляются на ранних стадиях образования периферического миелина, состав их с возрастом не изменяется, а количество увеличивается с ходом развития.

Белки миелина обладают низкой обменяемостью. Так, период полураспада общих белков мозга 6 дней, а период полураспада белков миелина 14 дней, но, несмотря на это, около 50% белков миелина имеют значительную метаболическую активность. Довольно интенсивно обменивается белок Вольгрема.

О металлопротеинах миелина известно немного. Установлено, например, что при дефиците меди в мозгу наблюдается острая недостаточность миелина.

### 5.3. ФОРМИРОВАНИЕ МИЕЛИНА НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

У крыс, чей мозг развивается в основном постнатально, максимальная скорость клеточной пролиферации совпадает с периодом быстрой миелинизации и является одним из главных событий в развитии нервной системы. Мозг крысы начинает образовывать миелин на 10—12-й день постнатального развития. У 5-дневных крыс можно выделить 4 мг миелина, а в последующие 15 дней это количество увеличивается в 6 раз, у 6-месячных крыс можно выделить уже 60 мг миелина. В течение этих же 6 месяцев вес мозга увеличивается на 50—60%.

Миелин, отложенный в первые 5 дней, очень сильно отличается от миелина зрелого мозга. Рыхлый или ранний миелин формируется в зрелый миелин в результате химических процессов, включающих добавление «основного» белка, который электростатически связывается с кислыми липидами, а также длинноцепочечных гликолипидов в мембраны, которые, видимо, благодаря своим гексозам благоприятствуют адгезии мембран. По мере созревания увеличивается содержание галактолипидов (на 50%) и отношение «основного» белка к протеолипиду Фолча; содержание лецитина, десмостерола и доля полисиалоганглиозидов уменьшается. У крыс изменения подобного рода происходят почти до 2-летнего возраста.

Миелинизация не происходит во всех частях нервной системы одновременно, а следует в порядке филогенетического развития. Часть периферической нервной системы миелинизируется первой, затем спинной мозг, створовая часть, мозжечок, таламус и последними полушария головного мозга и область межкорковых ассоциаций. Следует отметить, что нервные пути становятся миелинизированными до того, как сформируются полностью функционально; справедлива и обратная взаимосвязь — формирование функций стимулирует миелинизацию. Эта связь во многом неясна. Доказано, что большая потеря функций в нервной системе связана с потерей миелина. Содержание миелина у новорожденных разных видов животных раз-



лично, что сказывается на поведении этих животных. Например, в ЦНС гнездящихся животных, таких как крыса, миелинизация постнатальная, и животные совершенно беспомощны при рождении. Пастбищные животные, такие как лошади, овцы, коровы, имеют значительное количество миелина уже при рождении и соответственно более высокий уровень активности сразу после рождения. Максимальная скорость миелинизации у человека имеет место до рождения, двигательные тракты начинают миелинизироваться на 5-м месяце плода. Мозг человека почти полностью миелинизируется ко 2-му году жизни, хотя, по-видимому, миелинизация продолжается в мозгу человека почти до 20 лет.

Миелин ЦНС образуется из олигодендроглии, а миелин ПНС — из шванновских клеток. Многочисленные метаболические изменения, происходящие в процессе миелинизации, отражают увеличенную способность клеток олигодендроглии и шванновских клеток синтезировать белки и липиды для мембран миелина. Непосредственно перед миелинизацией в этих клетках увеличивается активность окислительных НАДН-зависимых ферментов, число митохондрий, активность церебродитрансферазы, увеличивается синтез холестерина и синтез длинноцепочечных жирных кислот. С другой стороны, арилсульфатаза, которая деградирует сульфатиды, достигает своей максимальной активности к 15-му дню, а затем ее активность к 90-му дню снижается на 70% от максимальной активности. Церебродитаза постепенно увеличивает свою активность, достигая максимальной величины к 90-му дню, этот уровень сохраняется и у взрослых животных.

#### 5.4. СТРУКТУРА МЕМБРАНЫ МИЕЛИНА

Миелиновое волокно представляет собой сильно растянутую и модифицированную плазматическую мембрану либо шванновской клетки (для ПНС), либо олигодендроглиальной клетки (для ЦНС), которая обертывается и многократно закручивается вокруг аксона в виде спирали (рис. 15). В зрелом миелиновом волокне эти мембраны сконденсированы в компактную паракристаллическую, многослойную структуру, в которой каждая единичная мембрана тесно прилегает к соседней (рис. 16). Белковые слои каждой единичной мембраны вставляются в белки близлежащей мембраны.

Миелиновая мембрана несколько отличается от «сэндвича» Даниелли — Дауссона, где бимолекулярный слой липидов зажат между двумя слоями белка. В ламелле миелина ширина липидной зоны соответствует не одному, а двум бимолекулярным слоям липидов (каждый шириной 55 Å), которые зажаты между белковыми слоями шириной 30 Å. В целом ширина по-



вторяющейся единицы 170—180 Å в зависимости от степени гидратации миелина.

Финеан предложил молекулярную модель строения миелина, учитывающую особенности состава и строения миелиновой оболочки, в частности высокое содержание в ней холестерина и

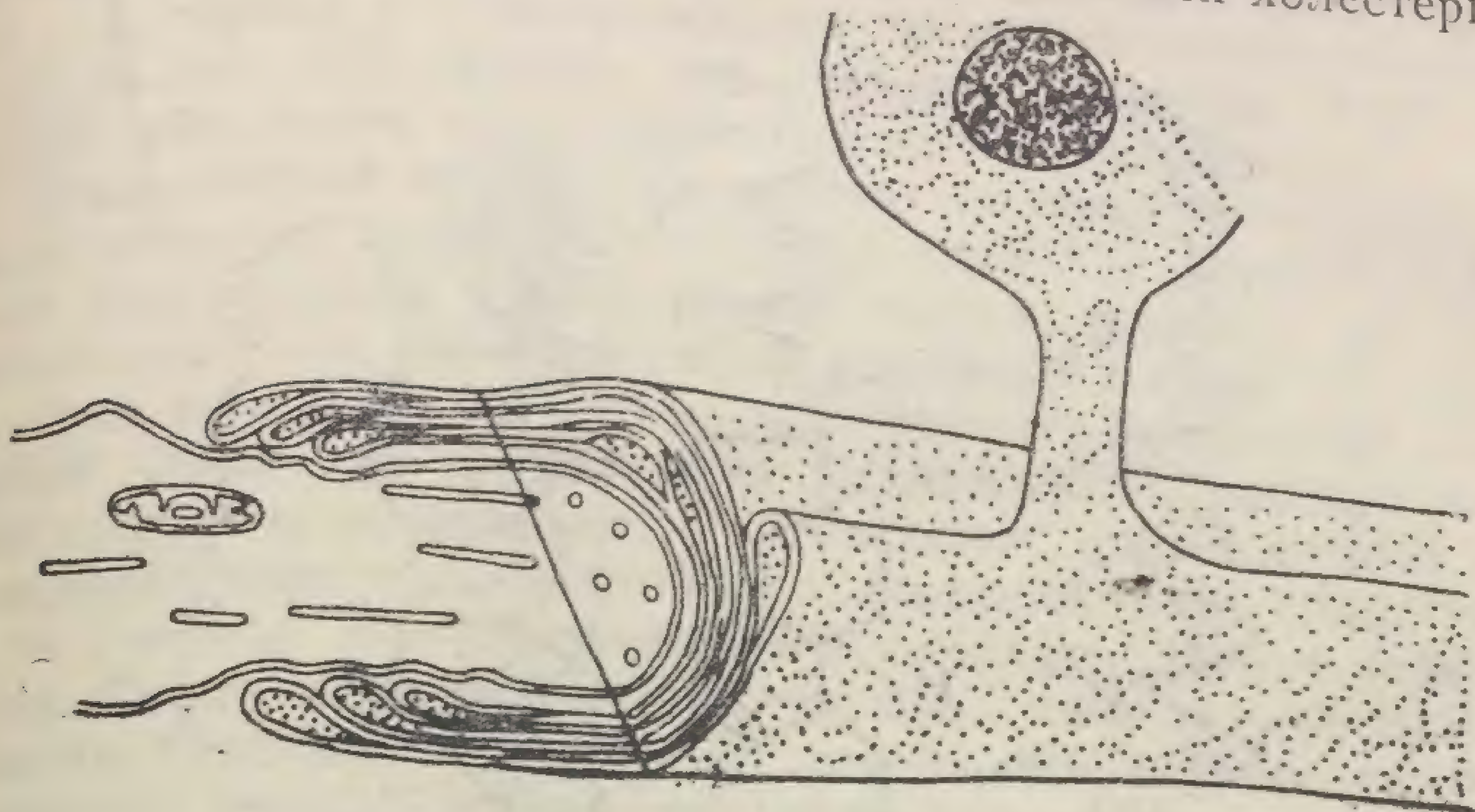


Рис. 15. Олигодендроглиальная клетка с участком аксона, который она обволакивает (Norton, 1975).

галактолипидов. Липидные компоненты этих слоев ориентированы радиально, а белковые — тангентально, причем углеводородные цепи жирных кислот обращены внутрь слоя, навстречу друг другу, «хвост к хвосту», а полярные группы липидов расположены на внешних сторонах липидного слоя, где они взаимодействуют с белками. Для того чтобы в отведенной ширине липидного слоя молекулы липидов могли разместиться строго радиально, Финеан предложил модель строения холестерин-фосфолипидного комплекса, согласно которой полярный конец молекулы фосфолипида загибается на конце в виде трости, к крючку которой (азотистому основанию) присоединяется за счет водородной связи OH-группы молекула холестерина, заполняющая собой вторую ветвь U-образной структуры (рис. 17). В двойном липидном

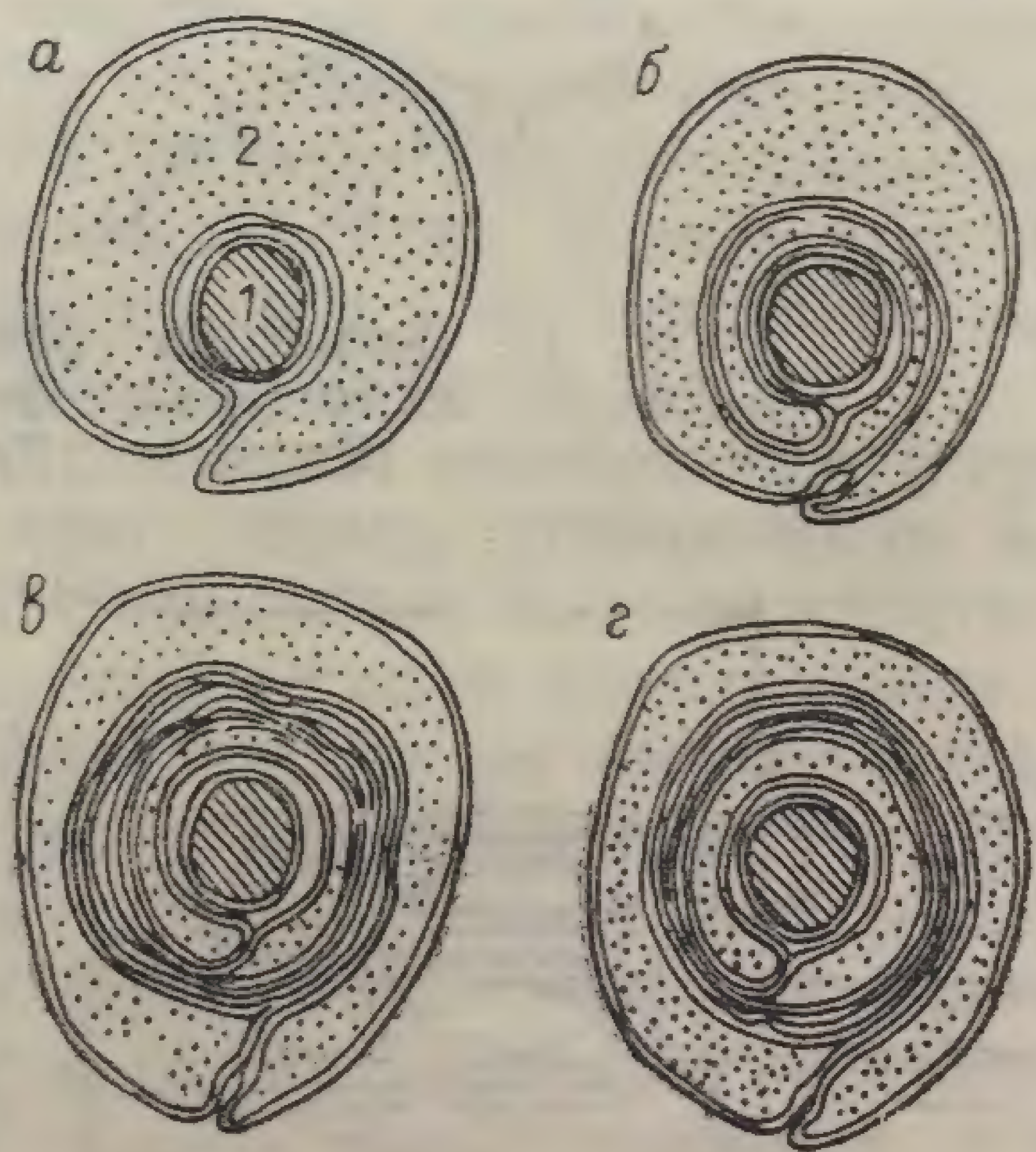


Рис. 16. Постепенное формирование многослойной миелиновой мембраны вокруг аксона (1) шванновской клеткой (2) (Norton, 1975).



слое миелина эти холестерин-фосфолипидные комплексы чередуются с радиально расположенными молекулами цереброзидов (рис. 18). Эта модель, объясняя присутствие больших количеств холестерина в миелине, позволила выдвинуть концепцию упорядоченного расположения всех миелиновых липи-

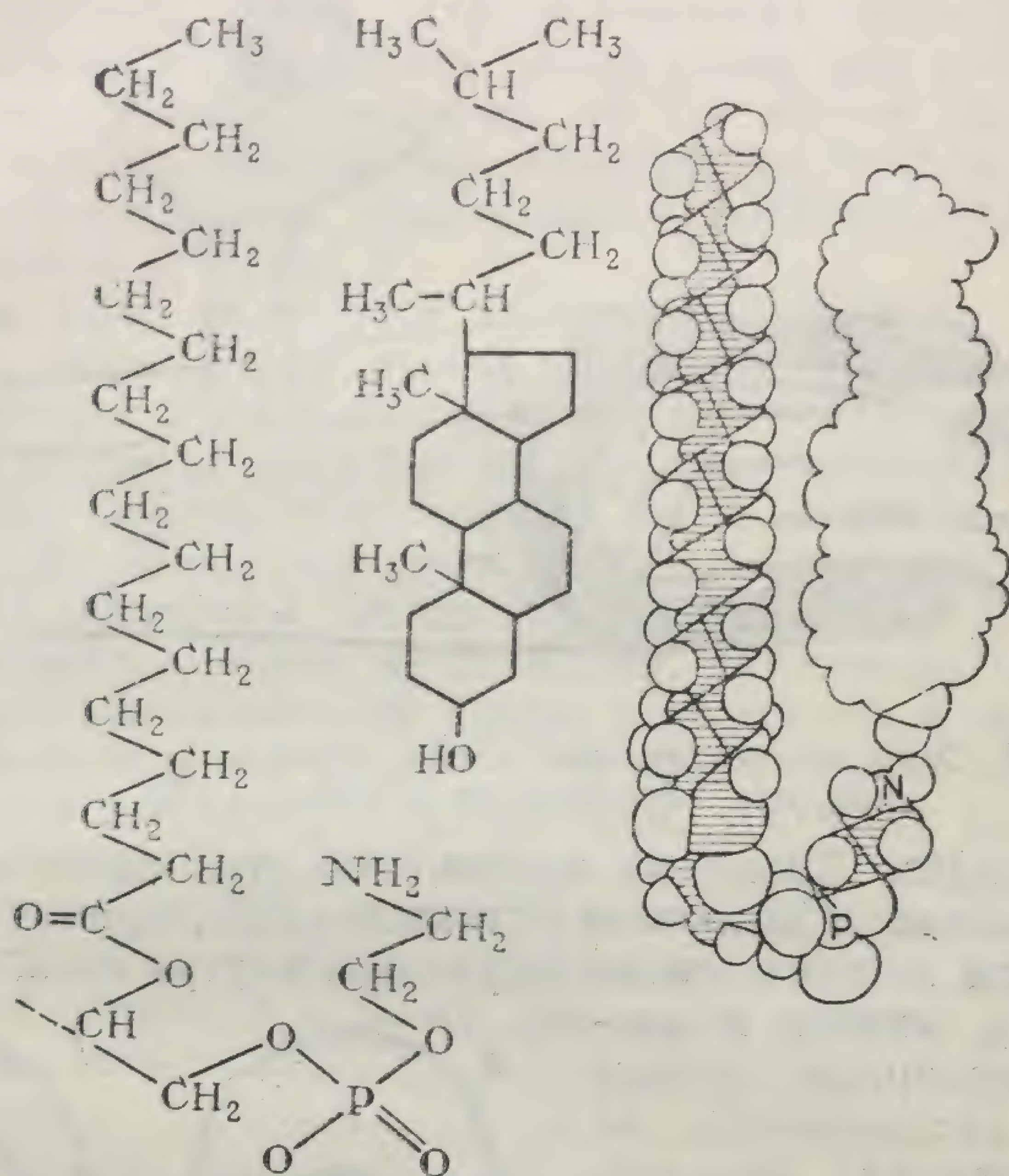


Рис. 17. Возможное пространственное расположение холестерин-фосфолипидного комплекса (Engström, Finean, 1958).

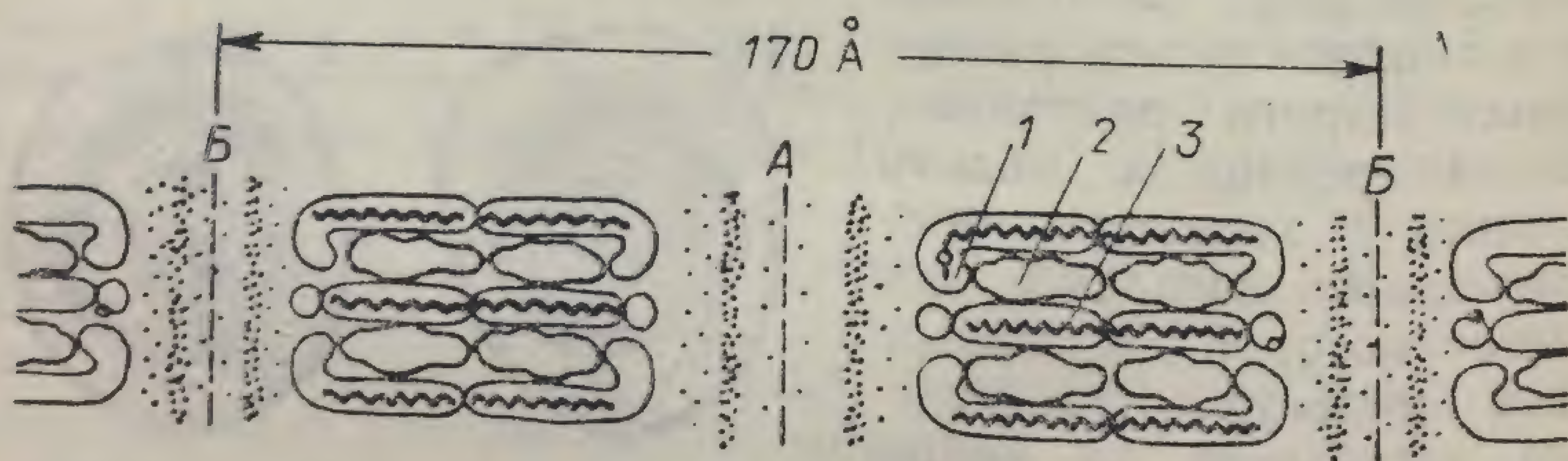


Рис. 18. Возможное расположение молекул в структурной единице миелиновой оболочки (А, В — белковые слои) (O'Brien, 1965)  
1 — фосфолипид; 2 — холестерин; 3 — цереброзид.

дов. Правда, эта модель не объясняет некоторых деталей строения миелина: а) расположения длинноцепочечных жирных кис-



лот в ограниченном пространстве ( $50 \text{ \AA}$ ), где они не могут уместиться; б) пространственного положения ненасыщенных жирных кислот с двойной связью, молекулы которых изогнуты; в) сил, обеспечивающих взаимодействие холестерина с фосфолипидами, поскольку ионное взаимодействие ОН-группы холестерина с терминальными группами фосфолипидов (за исключением  $\text{NH}_2$ -группы этаноламина) слишком слабо и не может обеспечить стабильность всего комплекса.

Ванденхейвел предложил другую модель, учитывающую эти несоответствия, согласно которой в молекуле холинфосфатидов цепи двух жирных кислот лежат параллельными зигзагами в тесном контакте. Ненасыщенная же кислота имеет большее или меньшее изгибание цепи в зависимости от количества двойных связей. Молекула холестерина располагается между холинфосфатидом и искривленным участком ненасыщенной цепи. Взаимодействие холестерина с холинфосфатидом обеспечивается за счет сил Ван-дер-Ваальса и слабодипольного взаимодействия. Таким образом, изгибание цепи ненасыщенной жирной кислоты фиксирует положение холестерина и не позволяет ему смещаться вдоль насыщенной цепи к ее концу. Ванденхейвел предложил стереомодель липидного слоя миелина, которая объясняет расположение в миелине цереброзидов и сульфатидов, содержащих длинноцепочечные жирные кислоты. В этом случае два противоположно ориентированных сфинголипид-холестериновых комплекса располагаются таким образом, что длинноцепочечные углеводородные хвосты как бы проникают между молекулами липидов противоположного слоя, напоминая переплетенные пальцы. При этом хвостовой конец  $\text{C}_{24}$  насыщенной жирной кислоты располагается под углеводородным хвостом холестерина противоположного слоя. Если кислота  $\text{C}_{24}$  ненасыщенная, то конец ее цепи изогнут и не лежит под холестерином, а упирается в него своей изогнутой частью.

Таким образом, присутствие в миелине цереброзидов и сульфатидов придает более высокую степень стабильности всей мембранной структуре как в направлении по окружности за счет взаимодействия длинных цепей жирных кислот между собой, так и в радиальном направлении при их ван-дер-Ваальсовом взаимодействии с холестерином противоположного слоя.

Особая роль ненасыщенных и насыщенных жирных кислот проявляется в поддержании стабильности миелиновых мембран. Наличие двойной связи ведет к искривлению углеводородной цепи пропорционально степени ненасыщенности, и при наличии шести двойных связей конфигурация углеводородной цепи становится С-образной. Искривление цепи препятствует ее тесному примыканию к соседней молекуле, и взаимодействие пар  $\text{CH}_2$ -групп соседних цепей будет значительно слабее, так как действие ван-дер-Ваальсовых сил уменьшается с увеличением межатомных расстояний. Более того, при наличии



шести двойных связей не может быть образован комплекс фосфолипид — холестерин, так как молекула холестерина не помещается в том пространстве, которое для нее остается. Для миелина характерно сравнительно низкое содержание короткоцепочечных и полиненасыщенных жирных кислот, что обуславливает его стабильность и плотность в отличие от других биологических мембран. Холестерин также увеличивает жесткость и упорядоченность всей структуры миелина и содействует выравниванию слоя липидных компонентов. Для этого эффекта необходимо наличие у  $C_3$  незамещенной ОН-группы, которая обеспечивает стереоспецифическое, электростатическое и гидрофобное взаимодействие, фосфолипидов и холестерина. Возможно, что определенную роль в формировании фосфолипид-холестериновых комплексов играет и стерическое взаимодействие углеводородных цепей фосфолипида с холестерином, возникающее благодаря особенности очертания его молекулы.

Структурная стабильность миелина зависит не только от прочности связей между молекулами липидов, но и от силы взаимодействия их с белками. Главная роль принадлежит ионному взаимодействию между фосфорильными или основными группами фосфолипидов с катионными или анионными группами белка. Поскольку при физиологических значениях pH все фосфолипиды либо находятся в состоянии цвиттерионов, либо несут больший или меньший отрицательный заряд (например, полифосфоинозитиды), то образуются прочные солеобразные соединения, преимущественно с основными белками миелина, поддерживающие прочность миелина в радиальном направлении. Силы, фиксирующие структуру миелина по окружности, зависят не только от межмолекулярного взаимодействия параллельных углеводородных цепей липидов, но и от свойств белков, степени их гидратации и способности к гидрофобному взаимодействию с липидными слоями. Присутствие небольших количеств воды в миелине обеспечивает наличие водородных связей. Упрочению структуры всей мембранной единицы миелина способствует также электростатическое взаимодействие между отрицательно заряженными группами двух различных молекул липидов или белков с двухвалентными катионами (например, с ионами  $Ca^{2+}$ ), которые образуют мосты между анионными группами фосфолипидов и белков путем образования тройных комплексов.

Образование многослойной миелиновой мембраны начинается с того, что плазмалемма шванновской или глиальной клетки окружает аксон и соединяется, образуя двойную мембранную структуру. Эта структура, называемая мезаксоном, многократно закручиваясь спирально, конденсируется в компактную миелиновую оболочку. Мезаксон является мельчайшей субъединицей миелина и имеет пятислойную структуру белок-липид-белок-липид-белок. Асимметрия мембраны обусловлена различ-



ным химическим составом наружной и цитоплазматической сторон мембраны, различным содержанием холестерина на наружной и внутренней сторонах двойной мембраны.

Миелиновая оболочка не является непрерывной по всей длине, так как каждая клетка одевает миелином только сегмент аксона. Между сегментами остаются непокрытыми короткие участки — это перехваты Ранвье. Миелиновая оболочка у перехватов имеет несколько иное строение: миелиновая петля соединяется и образует комплекс с аксолеммой, а в межперехватовой области миелиновая оболочка отделена от аксона щелью межклеточного пространства, названного щелью Шмидта — Лантермана.

Одна глиальная или шванновская клетка могут миелинизировать в среднем более 40 аксонов, а в периферической нервной системе один аксон может иметь более 100 слоев. Во время миелинизации происходит удлинение межперехватовой области, увеличение диаметра аксона и числа миелиновых слоев. Миелин поэтому растягивается сразу во всех направлениях, и любой механизм, допускающий этот рост, должен исходить из податливости мембраны и ее способности расширяться и сжиматься.

Что же касается функциональной активности миелина, то большинство исследователей считает, что миелин — прежде всего электрический изолятор. Отчасти это справедливо, хотя главная функция данного волокна — облегчение проведения нервного импульса в аксонах, что гораздо важнее, чем предохранение от короткого замыкания в близлежащих волокнах. Проведение в миелинизированном аксоне отличается от немиелинизированного по самой своей природе. В первом оно скачкообразное и осуществляется в 6 раз быстрее, чем в немиелинизированном аксоне, где проведение осуществляется местными токами. Проведение нервного импульса в миелинизированном аксоне требует гораздо меньше энергии, только  $1/300$  от энергии, требующейся для проведения в немиелинизированном аксоне такого же диаметра.

Ранние исследования Дэвисона, Велча, Сперри и других авторов показали, что липиды миелина обладают долговременной метаболической стабильностью. Фактическая причина большой метаболической устойчивости миелина по сравнению с другими составными частями мозга неизвестна. Возможно, это своего рода эволюционная адаптация, которая с пользой проявляется в нервной системе взрослых животных. Необходимо привлечь внимание размеры цитоплазмы и миелиновых мембран. Типичный аксон периферической нервной системы, имеющий 5 мкм в диаметре, толщину миелиновой оболочки 1 мкм и длину межперехватового расстояния 100 мкм, будет иметь около 50 миелиновых слоев. Тогда объем миелина, созданного одной шванновской клеткой, составит 18,84 куб. мкм, а общая



площадь миелина, раскрученного с аксона, будет равна  $1 \cdot 10^6$  кв. мкм или 1 кв. мм. Таким образом, громаднейшая миелиновая мембрана поддерживается цитоплазмой, площадь которой на два порядка меньше. Видимо, это отношение площади мембраны к площади цитоплазмы может достаточно убедительно объяснить низкую метаболическую активность миелина.

### 5.5. ДЕМИЕЛИНИЗАЦИЯ

Процесс миелиногенеза очень сложен и пока еще недостаточно выяснен; очевидно только, что это не простое образование многочисленных мембранных слоев шванновскими и олигодендроглиальными клетками. Однако известно, что нормальное отложение миелина может происходить только при сохранности шванновских и глиальных клеток, при их нормальном функционировании. Отложение миелина зависит также от целостности аксона, который он обволакивает. Многие заболевания нервной системы, которые затрагивают функционирование клеток и которые приводят к гибели нейронов, сопровождаются потерей миелина. Поскольку миелин составляет приблизительно 50% от веса белого вещества, то уменьшение количества миелина, или наличие активного процесса демиелинизации, морфологически легко различимо. Не всегда, однако, ясно, является ли потеря миелина главным фактором заболевания или сопутствует какому-то другому патологическому процессу. Имеются заболевания, в которых демиелинизация, или недостаток миелина, является главным фактором. Были сделаны попытки классифицировать болезни миелина на основе патологии, этиологии, биохимии, но четкой классификации пока нет. На основе гистологических критериев для удобства болезни миелина делят на две категории — первичную и вторичную демиелинизацию.

Первичная демиелинизация — это разрушение миелина и его нормальных структурных компонентов у довольно протяженных аксонов. Сюда относятся следующие заболевания: множественный склероз, синдром Гильяна — Барре, экспериментальный аллергический энцефаломиелит и дифтерийные невриты. Вторичная демиелинизация — это любое уменьшение количества миелина после деструкции аксона. Примерами служат Валериановская дегенерация после перерезки нерва и амиотрофный латеральный склероз. Существуют такие демиелинизирующие заболевания, которые трудно отнести к первичной или вторичной демиелинизации (например, подострый склеротизирующий панэнцефалит и собачья чума), поскольку и миелин и аксон обнаруживают патологию. В таких случаях в отдельных участках превалирует либо первичная, либо вторичная демиелинизация.



Позер выделил особую категорию заболеваний — дисмиелинизацию — для выражения генетически определенного нарушения миелиногенеза. В эту категорию входят наследственные болезни, которые приводят к недостатку и разрушению миелина. В настоящее время известно три таких заболевания: болезнь Краббе (глобоидная лейкодистрофия), метахроматическая лейкодистрофия, синдром Рефсума.

Болезнь Краббе (глобоидная лейкодистрофия) — генетически обусловленное заболевание с резким изменением белого вещества и серьезным недостатком миелина и олигодендроглии. Генетическому блоку подвержен фермент, который деградирует цереброзиды, — галактозил- $\beta$ -галактозидаза. Избыток цереброзидов накапливается в особых глобоидных клетках. Полной ясности в патогенезе этого заболевания нет. Считают, что в начале, пока недостаток фермента отчетливо не проявляется, миелин образуется, а затем на избыточное накопление цереброзидов организм отвечает появлением глобоидных клеток, гибелью олигодендроглии и очень малой продукцией миелина.

Метахроматическая лейкодистрофия характеризуется почти полным отсутствием фермента сульфатазы, которая отщепляет сульфат от сульфатидов, приводя к образованию цереброзидов. При этом происходит резкое накопление сульфатидов, что сопровождается недостатком миелина. А незначительное количество миелина, которое удается выделить, содержит очень много сульфатидов и мало цереброзидов, хотя отношение липид/белок в миелине не нарушено.

Болезнь Рефсума — это недостаток фермента, деградирующего фитановую кислоту (3,7,11,14-тетраметилгексадекановую)  $\alpha$ -окислением. Она накапливается в фосфолипидах миелина и нарушает структуру и стабильность (компактность) миелиновых мембран.

Существует еще одна категория заболеваний — гипомиелинизация, при которой по разным причинам миелинизация нарушена или задержана, т. е. образуется недостаточное количество миелина. Если имеется почти полная задержка миелиногенеза на ранних стадиях развития, то образуется малое количество миелина, незрелого, некомпактного, химически и ультраструктурно отличного от зрелого миелина. В других случаях образуются миелиновые волокна, по структуре и химизму аналогичные нормальному миелину, но его образуется очень мало. В эту категорию заболеваний попадают врожденные ошибки метаболизма аминокислот. Определенные нарушения обмена аминокислот, особенно фенилкетонурия, вызывают гипомиелинизацию. При этом наблюдается низкое содержание миелина и он имеет на 40% меньше протеолипидного белка и цереброзидов. Такой миелин можно получить, вводя животным боль-



шие дозы фенилаланина, в результате накопления деаминированных продуктов развиваются процессы демиелинизации.

Выведены две мутантные линии мышей — quaking и jumper — с недостатком миелина. У quaking мышей блокирован фермент синтеза цереброзидов — церамидгалактозилтрансфераза.

Впервые отличающийся от нормы состав миелина выявлен в подостром склеротирующем панэнцефалите, вызванном вирусом кори. Это заболевание включает деструкцию нейронов и олигодендроглии. Миелин имеет очень высокое содержание холестерина, малое количество цереброзидов и фосфатидальэтаноламина. В миелине не обнаружено эфиров холестерина, хотя белое вещество ими изобилует. Подобные отклонения в составе миелина обнаружены в мозгу человека при губчатой дегенерации мозга, при болезни Тей — Сакса, Нимана — Пика, болезни Шилдера. Все эти болезни разной этиологии, патологии и биохимии, но включают вторичную форму демиелинизации.

Общей чертой всех демиелинизирующих заболеваний является потеря протеолипидного белка, цереброзидов, фосфатидальэтаноламина, повышение содержания эфиров холестерина, увеличение количества воды. Все эти изменения могут быть связаны с разрушением и постепенной заменой миелина межклеточной жидкостью, астроцитами, воспалительными клетками. Значительность этих нарушений несомненно отражает активность и глубину разрушительного процесса. Дегенерация миелина может быть ускорена либо действием клеток и ферментов, либо иммунологическими процессами или токсинами. Так, в экспериментальном аллергическом энцефаломиелите большую роль играют антитела как антиглиальные, так и антинейрональные. В других заболеваниях дегенерация миелина вызывается макрофагами, их лизосомальными ферментами, которые прямо атакуют нормальный миелин, отщепляя его от аксона. Продукты разрушения «основного» белка миелина сильно отличаются в зависимости от типа атакующих клеток и pH среды. Как в нейтральных, так и кислых средах «основной» белок более энергично переваривается фагоцитами, чем лимфоцитами. При Валериановской дегенерации также увеличивается активность лизосомальных ферментов, и наблюдается уменьшение активности гидролазы эфиров холестерина. Холестерин — единственный компонент миелина, который не может расщепляться лизосомальными ферментами лимфоцитов и макрофагов, но зато он эстерифицируется. Показано, что в патогенез демиелинизации могут включаться липазы, протеиназы, неспецифические гидролазы. Одни липазы неспособны разрушить структуру миелина, совместное же действие фосфолипазы А и трипсина приводит к резкой потере «основного» и протеолипидного белка. Фосфолипаза А превращает фосфолипиды миелина в лизоформу, причем по скорости превращения их можно расположить в следующий ряд: ФЭ > ФХ > ФС. После



действия фосфолипаз белки миелина, особенно белок Фолча, становятся более доступными и атакуются протеолитическими ферментами. Разрушение сопровождается образованием более низкомолекулярных продуктов (мол. вес 10 000) с иной электрофоретической подвижностью. Возможно, что образовавшиеся пептиды токсичны и вызывают демиелинизацию (например, пептид, ответственный за энцефалитогенные свойства и иммунный ответ в экспериментальном аллергическом энцефалите).

Из всего рассмотренного выше следует, что нормальное строение миелиновых мембран — необходимый фактор функционирования головного мозга. Миелин представляет собой уникальную, специфическую, надмолекулярную структуру нервной ткани. Эта своеобразная структура теснейшим образом связана не только морфологически и анатомически, но и метаболически с нейронами и нейроглией. При этом следует особо подчеркнуть, что наличие теснейшей связи, своеобразного «симбиоза» между нейронами и глией обеспечивает наиболее универсальное проявление деятельности нервной системы: возникновение и проведение нервного импульса. Таким образом, благодаря наличию системы нейрон — нейроглия, нервная система располагает огромными компенсаторными возможностями, обеспечивающими необходимый уровень разнообразных биохимических процессов не только при различных функциональных, но даже и патологических состояниях организма.



## Глава 6

### БЕЛКИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Наиболее характерным специфическим свойством белков, в том числе и белков нервной ткани, является определенная последовательность аминокислотных остатков в полипептидных цепочках, что обусловлено наличием определенных нуклеотидов в молекуле ядерной ДНК. Белки нервной системы (головного мозга, других отделов ЦНС и ПНС) в нативном состоянии представляют собой сложную гетерогенную систему, включающую кроме белков липиды, нуклеиновые кислоты, углеводы, их производные и другие небелковые компоненты. Для белков нервной системы особенно характерно образование надмолекулярных структур различной сложности.

#### 6.1. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛКОВ В НЕРВНОЙ ТКАНИ

Первый этап. Начало изучения белков нервной ткани относится к концу XIX в. Этот период продолжается примерно 75 лет — до 40—50-х годов этого столетия. Первыми исследователями, которые интенсивно изучали белки нервной ткани, были Петровский, Данилевский, Ленц, Слобцов, Галлибуртон и др. Ими были выделены и охарактеризованы следующие белки: нейростромин, нейрокеразин, нейрокератин, а также белок, содержащий фосфор, который Ленц назвал нейронуклеоальбумином. Петровский, Галлибуртон и другие авторы установили, что в сухом остатке различных отделов нервной системы белка содержится в среднем: в сером веществе 51%, в белом — 33, в спинном мозге — 31 и в седалищном нерве — 29%.

В конце прошлого века А. Я. Данилевский приступил к систематическому изучению белков нервной ткани. Он выделил из мозга нейростромин, который оказался нерастворимым в воде, этаноле, слабых кислотах и щелочах. По расчетам авто-



ра, нейростромин составляет примерно 9—10% по отношению ко всем белкам головного мозга. Следует отметить, что А. Я. Данилевский многократно подчеркивал важнейшую роль белка в деятельности нервной ткани.

В конце 20-х — начале 30-х годов А. В. Палладин с соотр. приступил к систематическому исследованию белков нервной ткани. В различных растворителях ( $H_2O$ , 4,5%-ный  $KCl$  и 0,1 н.  $NaOH$ ) были выделены растворимые белки головного мозга, основная масса которых приходится на долю глобулинов (80—90%), альбумины составляют в среднем не более 5%. Как

Белки серого и белого вещества головного мозга Таблица 31

Способ извлечения	Белковые фракции мозга	Белковый азот, %	
		Серое вещество	Белое вещество
Вода	Альбумин, глобулины	31,0	20,0
4,5%-ный $KCl$	Глобулины	28,0	24,0
0,1 н. $NaOH$	Глобулины	36,0	34,0
Остаток	Нерастворимые белки	5,0	22,0

видно из табл. 31, в сером веществе содержится больше растворимых белков в воде (31%), чем в белом (20%). Эти белки оказались смесью альбумина и глобулинов. Количество белка, извлекаемого 4,5%-ным раствором  $KCl$  и 0,1 н.  $NaOH$  из серого вещества, в среднем было равно 64%, из белого — 58%, причем основная масса, как видно, приходилась на долю глобулинов. Наиболее резкое различие в составе белков серого и белого вещества наблюдалось в отношении нерастворимого остатка, в сером веществе оно составляло 5%, а в белом — 22%.

Кроме того, Палладин и его ученики исследуя белки головного мозга разных видов животных, пришли к выводу о том, что в филогенетически наиболее молодом и функционально более сложном отделе нервной системы, а именно в коре больших полушарий, содержится не только больше белка, чем в белом веществе, но и качественно белки серого и белого вещества различны. В дальнейшем это было подтверждено многими авторами.

**Второй этап.** Систематическое исследование белков в нервной ткани начинается с конца 40-х и начала 50-х годов XX в. Этот период характеризуется исключительно широким применением современных разнообразных физических, химических и биохимических методов исследования.

1. В последнем десятилетии наличие свободных радикалов в белках нервной системы исследуется методами парамагнитного (ПМР) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР).



2. Для изучения специфических белков нервной ткани и для их идентификации особое значение приобрели иммунохимические методы — иммуноэлектрофорез, иммунобиологические реакции. С помощью иммунологических методов удается выявить не только видовые и органнне особенности белкового состава, но и идентифицировать белки в различных отделах головного мозга, ЦНС и ПНС, что особенно важно, если учесть исключительную гетерогенность белков нервной ткани. Метод является не только сугубо специфичным, но и высокочувствительным, достаточно иметь смесь белка в количестве 0,5—1,0 мкг в 1 мл экстракта, чтобы разделить его на десять и более фракций и подфракций.

3. В начале 50-х годов при исследовании метаболизма белков стал широко использоваться изотопный метод (метод радиоактивной индикации). Наиболее широко применяются следующие изотопы:  $^{14}\text{C}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{131}\text{I}$  и т. д. Как уже указывалось, значение этого метода исключительно велико, так как относительная стабильность состава и трудность извлечения белков не позволяли изучать интенсивность их метаболизма.

Изотопный метод позволил выявить существенные различия в интенсивности обмена белков как в различных субклеточных элементах, так и в разных отделах нервной системы, а также различие в интенсивности метаболизма отдельных представителей белков как простых, так и сложных.

В заключение следует отметить, что ввиду уникальных свойств белков, особенно в нервной ткани, их трудно классифицировать по единому принципу. Белки нервной системы характеризуются: а) по химическому составу (простые и сложные белки); б) по физико-химическим свойствам (растворимые и нерастворимые белки, кислые и основные и т. д.); в) по локализации в различных отделах ЦНС и ПНС и в субклеточных структурах нейронов; г) по метаболической активности; д) по их функциональной роли.

## 6.2. ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПРОСТЫХ БЕЛКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Белки нервной ткани делятся на простые и сложные. Простые белки, как правило, делят на четыре класса: альбумины, глобулины, катионные белки (гистоны и другие), опорные белки.

### Нейроальбумины и нейроглобулины

Как известно, альбумины и глобулины сыворотки крови по растворимости и электрофоретической подвижности изучены более полно, чем аналогичные белки других органов и тканей, особенно нервной ткани, поэтому альбумины и глобулины сы-



воротки крови условно принимаются за стандарт. В основу берется их электрофоретическая подвижность, по ним сравниваются альбумины и глобулины других тканей, в том числе и нервной ткани. Поскольку альбумины и глобулины головного мозга по своим свойствам несколько отличаются от аналогичных белков сыворотки крови, то они, как правило, называются нейроальбуминами и нейроглобулинами. Количество белков, извлекаемое из нервной ткани, существенно зависит от характера буферного раствора и от pH среды. Из представленных в

Количество белков, извлекаемое различными буферными системами (все растворимые белки мозга приняты за 100 %, Полякова, 1962)

Таблица 32

Система	pH	% белка
Янтарнокислый буфер	3,6	3,9
Ацетатный буфер	5,0	8,3
Вода	6,5	15,2
Физиологический раствор	6,5	17,0
1,15%-ный раствор KCl	6,5	17,5
Веронал-медиаловый буфер	8,6	20,7
Боратный буфер	9,2	20,3

табл. 32 данных видно, что больше белка извлекается из ткани головного мозга при pH 6,5 и выше. Кроме величины pH на количество извлекаемых белков оказывает также влияние характер буферного раствора. Что же касается числа фракций растворимых белков, то этот вопрос нельзя считать решенным, поскольку при использовании различных растворителей и буферных систем извлекаются не все растворимые белки, а только часть их.

При электрофоретическом разделении в первую фракцию белков нервной ткани входят преальбумины, которые движутся впереди нейроальбуминов. Количество преальбуминов составляет 2—3% от всех растворимых белков нервной ткани.

Следующей фракцией белков являются нейроальбумины. Эти белки хорошо растворимы в воде, в слабых растворах кислот, щелочей, нейтральных солей и в ряде органических растворителей. Количество альбуминов в головном мозгу относительно невелико, оно составляет в среднем около 5% по отношению к растворимым белкам. Однако эту величину нельзя считать окончательно установленной, и ее значение зависит от вида животного, его возраста и в какой-то мере от методики исследования. Нейроальбумины являются основным белковым компонентом растворимых фракций фосфопротеидов. При



Таблица 33

Процентное содержание основных представителей растворимых белков в головном мозгу\*  
(Полякова, 1962)

Объект исследования	Отдел мозга	Преаль- бумин	Альбумин	Глобулины							Автор
				$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$	$\gamma_1$	$\gamma_2$	
Морская свинка	Целый мозг	1,2	3,6	7,6	12,0	15,3	19,7	15,4	13,7	11,3	Hoffman, Shinko, 1956
Кошка		2,5	4,1	9,6	20,2	17,0	15,8	—	30,8	—	Владимиров и др., 1961
Крупный рогатый скот		—	7,9	11,2	27,8	12,5	13,0	10,7	8,0	—	Serban, 1959
Кошка	Кора больших полушарий	—	3,4	5,2	25,3	31,6	31,6	—	2,9	—	Полякова, 1956
Кошка		2,7	4,4	33,3	—	41,0	—	—	18,3	—	De Risio e.a., 1957
Кошка		4,9	5,6	10,5	18,9	19,1	18,7	15,5	6,8	—	Мезеш, 1961
Крупный рогатый скот		3,4	3,0	6,0	28,6	19,2	32,5	8,9	3,4	—	Полякова, 1956
Человек		0,7	1,9	4,2	7,8	25,9	26,2	14,6	8,8	10,1	Hoffman, Shinko, 1956
Человек		—	5,6	12,5	27,4	24,3	14,2	8,1	7,9	—	Robertson, 1960

\* Следует однако оговориться, что эти данные являются приблизительными, количество отдельных белков колеблется в значительных пределах, так как их содержание зависит от вида и возраста животного, локализации белков в тех или иных отделах нервной системы, а также от способа извлечения и разделения белков.



изучении состава белков ПНС обнаружено, что в безмякотных и мякотных нервных волокнах содержание альбуминов достигает 20—25% по отношению ко всем растворимым белкам. В то же время в звездчатых узлах, в которых преимущественно сосредоточены ганглионарные клетки, их содержание невелико. Следует отметить, что растворимые белки головного мозга существенно отличаются от белков в периферических нервах, и особенно это относится к альбуминам. Корешки спинного мозга анатомоморфологически происходят из белого вещества спинного мозга, однако по белковому составу, в частности по количеству альбуминов, они значительно ближе к периферическим нервам. По-видимому, содержание альбуминов определяется их функциональной ролью независимо от того, в какой из отделов нервной системы они входят.

В настоящее время проводятся исследования по изучению различий в белковом составе в разных отделах ЦНС и ПНС, однако пока имеются только фрагментарные сведения об альбуминах и глобулинах.

К следующим фракциям белков мозга относятся нейроглобулины, они составляют основную массу растворимых белков (89—90%). В свободном состоянии нейроглобулины находятся в нервной ткани в небольшом количестве, значительная часть их входит в состав сложных белков. Они легко соединяются с липидами, нуклеиновыми кислотами, углеводами и другими небелковыми компонентами, образуя при этом липопротейды, нуклепротейды, гликопротейды и т. д.

Часть нейроглобулинов растворяется в воде, значительное количество глобулинов растворимо в слабых растворах кислот, щелочей, нейтральных солей и в ряде органических растворителей (этанол, метанол и др.). В табл. 33 приводятся данные о процентном содержании растворимых белков — преальбумина, альбумина, глобулинов в целом головном мозгу и в коре больших полушарий. Известно, что глобулины делятся на три основные группы:  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ -глобулины. В нормальном состоянии животного по количеству белка эти группы располагаются в следующем порядке:  $\beta$ -глобулины  $>$   $\alpha$ -глобулины  $>$   $\gamma$ -глобулины. Применяя более усовершенствованный электрофоретический метод разделения в полиакриламидном геле, а также используя различные растворители и буферные системы, удается разделить глобулины на 13—15 и более фракций. Иммунохимическими методами нейроглобулины также делятся на 15 и более фракций (см. табл. 33). Что же касается содержания индивидуальных белков как в головном мозгу, так и в других отделах ЦНС и ПНС, то на этот вопрос пока трудно ответить.



## Основные белки нервной ткани (гистоны и негистоны)

К третьему классу простых белков относятся катионные белки. При электрофоретическом разделении они движутся к катоду при pH от 10,5 до 12,0. Основные белки легко реагируют с нуклеиновыми кислотами, липидами и углеводами, образуя сложные гетерогенные комплексы, которые участвуют в разнообразных процессах: в транспорте ионов, метаболитов через мембраны, в процессах возбуждения и торможения и др. Главнейшими представителями этого класса являются гистоны, которые преимущественно сосредоточены в хроматине эукариотических клеток, включая и нейроны. Молекулы гистонов состоят из одной полипептидной цепи и не имеют четвертичной структуры. Гистоны делятся на 5 основных фракций. Принцип деления их основан на содержании лизина, аргинина и глицина, а также N и C-концевых аминокислотных остатков. Первая фракция характеризуется как лизин-богатая фракция, она обозначается  $f_1$ , или  $H_1$ ; 2-я — относительно богатая лизином —  $f_{2b}$ , или  $H_{2b}$ ; 3-я — относительно богатая аргинином —  $f_{2a2}$ , или  $H_{2a}$ ; 4-я — богатая аргинином и глицином —  $f_{2a1}$ , или  $H_4$ ; 5-я фракция — богатая аргинином —  $f_3$ , или  $H_3$ . Основные фракции делятся на подфракции, их число 11—20 (возможно и больше). Молекулярный вес гистонов, как правило, составляет от 10.000 до 20.000. Состав и структура гистонов отличаются стабильностью и консервативностью. Так, высокая стабильность гистонов сохраняется при действии различных факторов: при повышенных концентрациях этанола, ацетона, трихлоруксусной кислоты, при увеличении температуры до 50°C и т. д.; эти же факторы у большинства представителей белков вызывают денатурацию и другие физико-химические изменения. При сравнении состава, структуры и свойств гистонов не наблюдается существенных отклонений не только в различных тканях и органах одного и того же животного, но даже сравнивая ряд фракций гистонов животных и растений, обнаруживается поразительная консервативность состава гистонов. Например, 4-я фракция гистонов, извлеченная из тимуса телят и бобовых растений, оказалась почти одинаковой.

Известно, что мутации во фракциях гистонов накапливаются через различные промежутки времени. Наиболее консервативными в этом отношении оказались гистоны и прежде всего 4-я фракция. В этой фракции закрепление мутации происходит примерно в  $1,5 \cdot 10^9$  лет, в то время как у иммуноглобулинов гормона роста усвоение одной мутации происходит в  $1-3 \cdot 10^6$  лет, т. е. быстрее в 500—1500 раз. Следовательно, стабильность состава, структуры и свойств гистонов свидетельствует об универсальности их как регуляторных механизмов транскрипции. Это происходит благодаря взаимодействию опреде-



ленных фракций гистонов с различными участками матричной ДНК и образованию комплексов ДНК—гистон.

В то же время гистоны относительно быстро расщепляются протеазами. Вторичная и третичная структуры гистонов под влиянием воздействия изменяются. Отдельные фракции гистонов могут ацетилироваться, фосфорилироваться и т. д., что делает еще более разнообразными подфракции гистонов в различных дифференцированных тканях, включая и нервную ткань. Например, из 5 основных фракций гистонов, а именно в 1-й, 3-й и 4-й, N-концевыми аминокислотными остатками является ацетилсерин. В молекуле гистонов число ацетильных групп может быть от 1 до 4. Процесс ацетилирования существенно не изменяет сродство гистонов к ДНК, т. е. возможность образования комплексов, однако значительно снижается способность гистонов тормозить транскрипцию.

Процесс фосфорилирования гистонов, входящих в состав ДНП, зависит от наличия в молекуле гистонов остатков серина, поскольку фосфорилироваться может только ОН-группа серина. С появлением фосфорильных групп и увеличением числа отрицательных зарядов третичная структура гистонов претерпевает изменения, при этом репрессорная активность фосфорилированных гистонов снижается. В третьей фракции гистонов содержится цистеин, поэтому в данной фракции возможно образование дисульфидных мостиков, что вызывает изменение третичной структуры гистонов и влияет на репрессорную активность их. Таким образом, источником гетерогенности гистонов можно считать модификации, происходящие в отдельных фракциях гистонов, а процессы ацетилирования, фосфорилирования и метилирования — как необходимые звенья механизма регуляции транскрипции.

Однако, чтобы обеспечить специфическую и притом быструю и четкую регуляцию транскрипции в ядрах нейронов, необходимо наличие дополнительных, мобильных и разнообразных механизмов, поскольку в головном мозгу осуществляется ряд специфических функций, присущих только нервной системе (проведение нервного импульса, формирование и хранение памяти и т. д.). Этим, по-видимому, объясняется ряд особенностей состава хроматина мозга: повышенное содержание ДНК и высокий уровень мРНК в ядрах нейронов в отличие от клеток печени и почек, хотя в данных органах происходит интенсивный метаболизм белков. Кроме того, обнаружена отчетливо выраженная корреляция между РНК-синтезирующей активностью и функциональным состоянием нейронов в различных отделах головного мозга. Хроматин мозга характеризуется также большим разнообразием негистоновых белков по сравнению с хроматином печени и почек, что было показано электрофоретическим разделением негистоновых белков хроматина в различных органах. В отличие от гистонов негистоновые белки содер-



жаты в большом количестве глутаминовую кислоту, поэтому они являются нейтральными или слабоосновными. Особенностью негистоновых белков также является наличие в их составе относительно большого количества фосфора (0,14%). Молекулярный вес отдельных подфракций негистоновых белков колеблется в значительных пределах—от  $1,6 \cdot 10^4$  до  $1,45 \cdot 10^5$ . Количество разновидностей негистоновых белков мозга окончательно не установлено, по некоторым данным оно может достигать 80. Все сказанное выше свидетельствует об исключительной гетерогенности и, по-видимому, специфичности негистоновых белков. Таким образом, можно предположить, что негистоновые белки наряду с ацетилированными и фосфорилированными фракциями гистонов мозга являются важнейшими компонентами регуляторных механизмов транскрипции в нервной ткани. Этот вопрос подробно рассматривается в соответствующих разделах молекулярной биологии.

### Нейросклеропропротеиды

Четвертый класс простых белков нервной ткани составляют склеропропротеиды. Их можно охарактеризовать как структурно-опорные белки, а по своему строению они относятся к фибриллярным белкам. Основными представителями этих белков являются нейроколлагены, нейроэластины, нейростромины и др. Они составляют примерно 8—10% от суммы всех простых белков нервной ткани и локализованы в различных отделах нервной системы неравномерно. Так, в белом веществе больших полушарий головного мозга содержание опорных белков достигает 20% по отношению к другим простым белкам, а в сером веществе их не более 5%. Высокое содержание опорных белков обнаружено в периферической нервной системе. Эти белки нерастворимы в воде, слабо растворимы в кислотах, нейтральных солях и в большинстве органических растворителей, но растворимы в щелочах, а  $\beta$ -кератины только в растворах крепких щелочей. Склеропропротеиды обнаруживают большую устойчивость к протеолитическим ферментам, поэтому их часто называли нерастворимыми белками, или нерастворимым остатком.

В настоящее время эти белки достаточно полно изучены как в отношении аминокислотного состава, так и их строения. Оказалось, что аминокислотный состав склеропропротеидов существенно отличается от других белков. Он не сложен: на долю глицина, аланина и серина приходится не менее 30—50%, в нейроколлагене имеется также большое количество пролина и оксипролина (примерно 20%), а в нейрокератине содержится не менее 12—13% цистеина и цистина. Аминокислотный состав этих белков менее разнообразен, они состоят из 5—7 аминокислот. Пептидные цепочки укорочены, поэтому в склеропро-



тендах наблюдается частая повторяемость субъединиц, что отражается на структуре опорных белков.

Коренным переломом в изучении строения опорных белков явился метод рентгеноструктурного анализа. В 30-х годах Астбюри впервые получил рентгенограммы белков, в которых пептидные цепи ориентированы в одном определенном направлении с образованием  $\alpha$ -спирали. В дальнейшем Поллинг и другие благодаря использованию метода рентгеноструктурного анализа, построению моделей с учетом размеров пептидных цепей и их пространственного расположения, а также проведя соответствующие расчеты, установили не только первичную и вторичную, но и третичную структуры. Широкое применение ряда физических методов — рентгеноструктурного анализа с использованием ЭВМ, методов ИКС, ЯМР и ПМР, позволило более углубленно изучить ультраструктуру склеропротеидов нервной ткани.

Таким образом, этот класс белков отличается резистентностью к действию ферментов и низкая метаболическая активность; участие их в структурно-опорных функциях специфическим образом отражается на архитектонике нервной ткани.

### 6.3. ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЛОЖНЫХ БЕЛКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Сложные белки в нервной ткани представлены в виде комплексов, состоящих из белковой части и небелковых компонентов, причем особенностью состава нервной ткани является высокое содержание в ней липидов. Так, в сером веществе содержание белков и липидов примерно одинаково, а в белом веществе липидов в 2—3 раза больше, чем белков. Если принять, что молекулярный вес белковых частиц составляет в среднем 75—100 тыс., а молекулярный вес липидов — 700—1000, то на одну молекулу белка примерно приходится 75—100 молекул липидов. Таким образом, значительная часть белка в головном мозгу находится в виде липопротеидов.

Сложные белки в нервной ткани можно разделить на шесть классов: липопротеиды, протеолипиды, фосфопротеиды, гликопротеиды, нуклеопротеиды и хромопротеиды. Однако такое деление следует считать условным, так как в нативной мозговой ткани часто содержатся более сложные надмолекулярные образования, например липонуклеопротеиды, липогликопротеиды, а возможно, и липогликонуклеопротеидные комплексы. Обычные методы, применяемые в современной биохимии для выделения и очистки сложных белков, мало пригодны, так как надмолекулярные связи (типа водородных и др.) являются непрочными и при любых способах обработки, как правило, разрушаются. Поэтому количественных данных, касающихся отдельных представителей сложных белков, имеется крайне ма-



ло. В то же время сложные надмолекулярные белковые образования мозговой ткани представляют исключительный интерес, поскольку они участвуют в важнейших специфических функциях головного мозга и других отделов нервной системы.

### Липопротеиды

Как отмечалось выше, основная масса сложных белков в головном мозгу, по-видимому, представлена в виде липопротеидных комплексов. Точных данных о количестве липопротеидов в мозгу и в других отделах ЦНС и ПНС не имеется. Существуют лишь косвенные данные, свидетельствующие о том, что значительная часть растворимых белков нервной ткани связана с липидами, причем типы и прочность связей белковых веществ с липидами могут быть различными: водородные, вандер-ваальсовы, гидрофобные и др. (рис. 19).

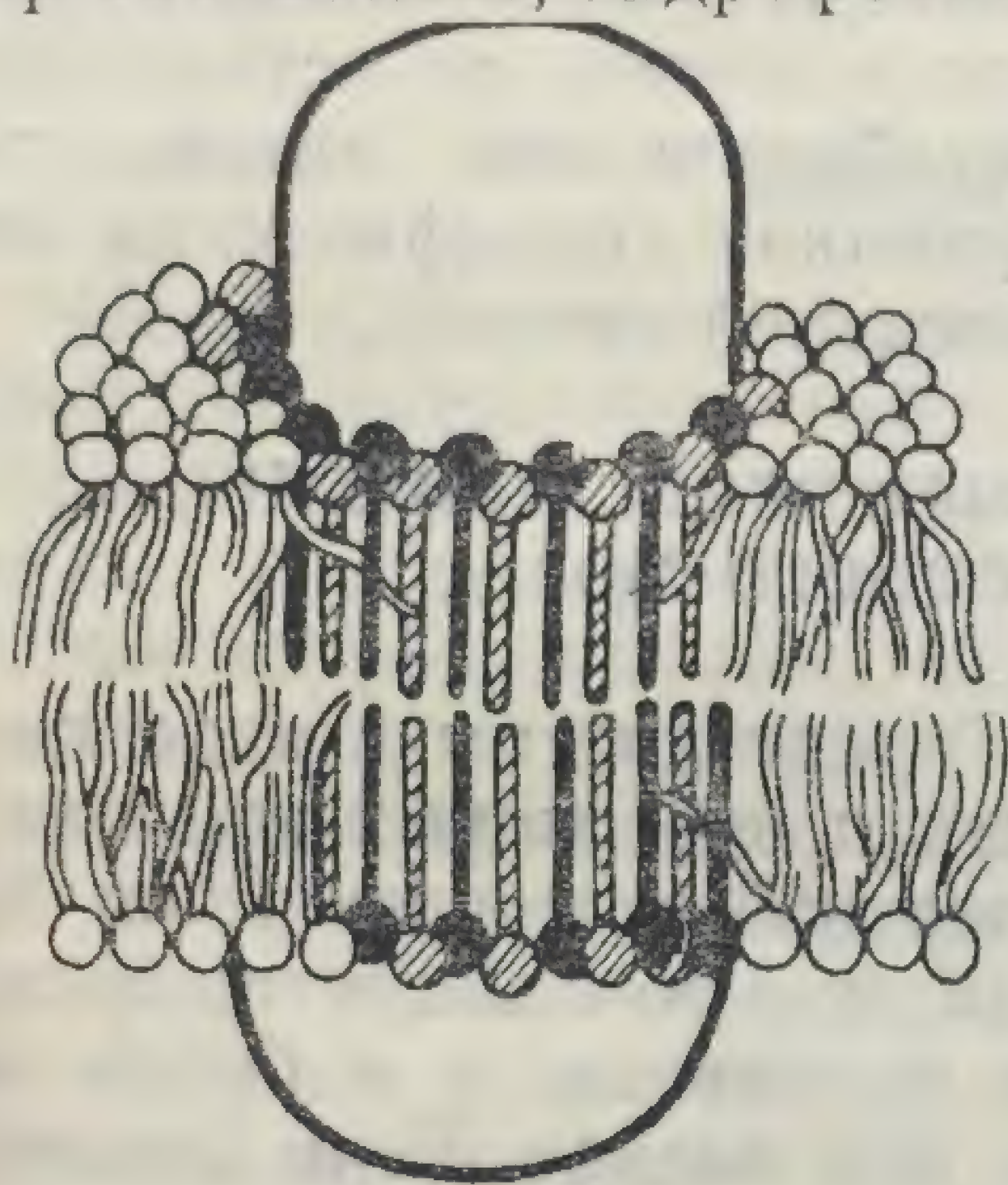


Рис. 19. Липидное микроокружение белков в мембранах (Финеан и др., 1977).

рофореза, применяемого при разделении липопротеидов мозга, установлено различное количество фракций. Причем белки, входящие в состав липопротеидов, являются преимущественно глобулинами и составляют примерно 70—75% всех глобулинов нервной ткани.

Косвенные данные, полученные биохимиками, морфологами, цитологами с использованием разнообразных физико-химических, биохимических методов, а также электронной микроскопии, цито- и гистохимии, позволяют рассматривать липопротеидные комплексы как функциональные единицы мембранных структур. Роль липопротеидов особенно велика в нервной ткани, так как в ней имеется много специализированных мембран, содержащих наибольшее количество различных липидов, характеризующихся большим разнообразием химиче-

В настоящее время высаливание и осаждение липопротеидов в изоэлектрической точке, а также кристаллизация используются только в сочетании с более точными современными физико-химическими, биохимическими, иммунологическими и другими методами, позволяющими получить отдельные фракции белков в более чистом гомогенном виде. Для фракционирования растворимых липопротеидов головного мозга применяются различные виды зонального электрофореза; пригодным оказался метод электрофореза на крахмале. Однако в зависимости от условий элект-



ских и физико-химических свойств (подробнее о мембранах см. в гл. 5).

### Протеолипиды

В протеолипидах, как и в липопротеидах, небелковыми компонентами также являются липиды. Однако по ряду физико-химических и биохимических свойств, а также по количественному содержанию, локализации и функциональной роли протеолипиды существенно отличаются от липопротеидов. Напротив, протеолипиды по своей растворимости близки к липидам, они хорошо растворимы и легко извлекаются смесью хлороформ—метанол. Впервые протеолипиды были выделены из белого вещества мозговой ткани Фолчем (1951). В настоящее время из всех представителей сложных белков протеолипиды наиболее полно изучены. Это объясняется тем, что строение белковой части протеолипида является относительно простым и более стабильным по сравнению с белковыми компонентами других сложных белков. Кроме того, как уже указывалось, протеолипиды — единственные сложные белки, которые извлекаются органическими растворителями, поэтому извлеченная фракция протеолипидов не содержит примесей других белков.

Наибольшее количество протеолипидов сосредоточено в миелине, в небольших количествах они входят в состав синаптических мембран и синаптических пузырьков, а также мембран митохондрий, цитоплазмы и других субклеточных структур. Протеолипиды участвуют в образовании миелиновых оболочек, этим и объясняется наиболее интенсивное накопление протеолипидов в период миелинизации (табл. 34), т. е. в пе-

Таблица 34

Содержание протеолипидов в некоторых отделах ЦНС крыс разного возраста, мг/г влажного веса (Манукян, 1974)

Возраст животного, дни	Головной мозг	Продолговатый мозг	Спинной мозг
1	0,46	0,61	0,79
10	0,70	1,27	1,28
20	1,52	2,74	3,42
30	2,28	4,90	5,59
40	3,00	6,91	6,58
90	4,84	10,20	11,30
Взрослые	5,65	12,58	13,16

риод с 10 до 30 дней постнатального развития животного. За это время в головном мозгу количество протеолипидов увеличивается в 3 раза, в продолговатом мозгу — почти в 4 раза, а



в спинном—в 4,3 раза. Содержание протеолипидов в головном, продолговатом и спинном мозгу у взрослых животных по сравнению с однодневными крысами возрастает в 10 и более раз.

Протеолипиды Фолча представляют собой гетерогенные вещества. Их делят, как правило, на три основные фракции: протеолипиды А, В и С, отличающиеся друг от друга по количеству белка и липидов, входящих в их состав. Фракция протеолипида А в своем составе содержит белков примерно 20%, а цереброзидов, фосфолипидов и холестерина около 75%. В протеолипиде В содержится белка около 40%, а фосфолипиды, цереброзиды и холестерин составляют 50—55%; в протеолипид С белки входят в количестве 65%, липиды, преимущественно фосфолипиды, составляют 25—30%. В молекуле протеолипидов значительная часть липидов прочно связана с пептидной цепью, поэтому при очистке протеолипидов часть липидов быстро отщепляется; к таким липидам относятся фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин, цереброзиды и холестерин. Напротив, кислые фосфолипиды, такие как фосфотидилсерин и фосфоинозитиды, особенно трифосфоинозитиды (ТФИ), прочно связаны с белками протеолипидов. Протеолипиды нервной ткани устойчивы к действию пепсина, трипсина, папаина и др., причем эта резистентность зависит не от липидов, так как при удалении их белок остается устойчивым к действию протеолитических ферментов.

Фолч и другие исследователи достаточно полно изучили аминокислотный состав протеолипидов, который во всех исследованных фракциях оказался идентичным. Следует, однако, отметить ряд особенностей аминокислотного состава протеолипидов: незначительное содержание аспартата и глутамата (примерно 10%); количество аргинина, лизина также не превышает 10%; неполярные аминокислоты — лейцин, изолейцин, валин, аланин, глицин и другие — составляют 60% от всех аминокислот, содержащихся в протеолипидах; относительно большое количество метионина и других серосодержащих аминокислот, а также триптофана.

По мнению Фолча, структурная стабилизация протеолипидов может определяться наличием трифосфоинозитидов. Как известно, ТФИ являются полианионами, которые связываются с катионами белковой части протеолипидов, вследствие чего возникает ось спиралеобразной структуры, причем на поверхности спирали в основном локализованы неполярные аминокислотные остатки. Если удалить ТФИ, спиральная структура протеолипида нарушается и белок переходит в водорастворимую форму.

В течение длительного времени протеолипид Фолча привлекал внимание исследователей как один из основных компонентов миелина. Однако совсем недавно из мозга человека и млекопитающих был выделен протеолипид, который обладал энцефалитогенным свойством. Так, при введении этого белка



морским свинкам у животных развивался экспериментальный аллергический энцефаломиелит. В настоящее время интенсивно изучается энцефалитогенный белок, его аминокислотный состав, физико-химические свойства и функциональная роль (подробнее см. раздел 6.4).

### Фосфопротеиды

К данному классу относятся сложные белки, простетической группой которых является, как правило, аминокислотный остаток серина, соединенный по типу сложноэфирной связи с фосфатной группой. В незначительных количествах простетическими группами могут быть тирозинфосфат и аргининфосфат.

Фосфопротеиды (ФП) в головном мозгу составляют около 2% по отношению ко всем сложным белкам мозга. Следует, однако, отметить, что их содержание в нервной ткани более высокое, чем в других органах и тканях животного организма. При высаливании фосфопротеиды делятся на 4 фракции, причем одна фракция является нерастворимой, она составляет примерно 1,70% от всех сложных белков. Растворимая (в воде и 0,9%-ном растворе NaCl) фракция фосфопротеидов содержится в количестве 0,30—0,35% и делится на 3 фракции. В дальнейшем было показано, что растворимые фракции ФП электрофоретически делятся на 9 подфракций. В растворимых фракциях ФП простыми белками являются альбумины и преальбумины. Структура отдельных подфракций ФП изучена недостаточно.

Фосфопротеиды обнаружены в мембранах различных морфологических структур: в изолированных ядрах нейронов, хромосомно-ядрышковом аппарате, в митохондриях и т. д. Например, в ядрах сосредоточено 38% ФП от всего содержания их в целой ткани селезенки, что свидетельствует о высоком содержании ФП в ядрах клеток животных. Кроме того, фосфопротеиды могут образовывать комплексы с гистонами. В свою очередь эти комплексы могут взаимодействовать с ДНК, при этом образуется дезоксирибонуклеопротеид (ДНП). Было также показано, что нативный и реконструированный ДНП-комплекс не отличаются по температуре плавления, дифракции и конформации молекулы ДНК. По-видимому, определенная роль в активности ядерной ДНК отводится фосфопротеидам, которые, связывая гистоны, тем самым способствуют деблокированию молекул как ДНК, так и РНК. В настоящее время проводится детальное изучение состава дезоксирибонуклеопротеидного фрагмента нативного и реконструированного хроматина.

Кроме того, многочисленные исследования с использованием  $^{32}\text{P}$  показали, что фосфатная группа фосфопротеидов харак-



теризуется высокой обновляемостью. Что же касается интенсивности включения меченных по углероду аминокислот, то пока нет достаточных оснований утверждать, что по углеродному скелету фосфопротеиды относятся к высокометаболируемым белкам, вероятнее всего, пептидная цепь ФП является относительно стабильной.

Фосфопротеиды, как уже указывалось, преимущественно сосредоточены в мембранах, и их фосфатные группы интенсивно обмениваются. Это дало основание предположить, что именно фосфопротеиды, являясь обязательными компонентами мембранных структур нейронов, ответственны за перенос фосфатных групп через мембраны. Предполагают также, что фосфопротеиды, участвуя в процессе трансфосфорилирования, могут быть связующим звеном, т. е. являться переносчиками  $H_3PO_4$  между макроэргами и другими фосфорными соединениями. Если сравнить метаболизм фосфатных групп ФП, то они обмениваются более интенсивно, чем фосфатные группы фосфолипидов. По интенсивности метаболизма фосфатная группа фосфопротеида уступает только АТФ:  $АТФ > ФП > ТФИ > ДФИ > МФИ > ФК > ФХ > ФЭА > ФС > СМ$ . Установлено также, что ФП обновляются более интенсивно в сером веществе больших полушарий, чем в белом. По-видимому, высокая обновляемость фосфатной группы ФП определяется специфическими функциями. Следует при этом отметить, что величина свободной энергии фосфатных групп ФП равна 3,9 ккал·г/моль, что облегчает перенос их через мембраны и участие ФП в процессах трансфосфорилирования. Не исключено и другое предположение, что фосфопротеидам принадлежит немаловажная роль в биосинтезе АТФ в митохондриях. По мнению ряда авторов, ФП являются промежуточными продуктами биосинтеза универсального макроэрга — АТФ, т. е. ФП можно рассматривать как первичный продукт фосфорилирования, который, взаимодействуя с АДФ, передает свою фосфатную группу, в результате чего образуется АТФ.

#### 6.4. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ БЕЛКИ НЕРВНОЙ ТКАНИ

За последнее время нейрохимии большое внимание уделяют специфическим кислым и основным белкам, участвующим в важнейших функциях нервной ткани как при нормальных, так и патологических состояниях. Специфичность белков в нервной ткани может быть определена рядом признаков: а) наличием простых или сложных белков преимущественно в нервной ткани; б) участием их в специфических функциях нервной системы; в) теснейшей связью между метаболической активностью нейроспецифических белков и функциональной деятельностью нервной ткани.



## Характеристика специфических кислых белков

Белок S-100, один из первых специфических белков нервной ткани (кислый белок), был обнаружен Муром. В дальнейшем он был назван белком Мура или белком S-100, поскольку он остается в растворе при 100%-ном насыщении  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  при pH 7,2. Белок S-100 был выделен при фракционировании водорастворимых белков головного мозга с помощью электрофореза на колонке крахмального геля или на колонке с ДЭАЭ-целлюлозой. Белок S-100 экстрагируется трифосфатным буфером (5 М) при pH 7,2, а высаливается при полном насыщении сернокислым аммонием при pH 4,2.

Белок Мура был выделен из головного мозга человека и целого ряда животных: обезьяны, собаки, кролика, свиньи, крысы, мыши, однако в других органах и тканях тех же животных — печени, почках, сердце, мышцах, легких, эритроцитах и сыворотке крови — он отсутствовал. В настоящее время установлено, что данный белок может содержаться в других органах, но в  $10^3$ — $10^4$  раз меньше, чем в нервной ткани.

Первая работа Мура и Мак-Грегора о белке S-100 была опубликована в 1965 г. Следует отметить, что в первых исследованиях для электрофоретического разделения белка S-100 применялся 7,5%-ный полиакриламидный гель (ПААГ), причем в колонке с ПААГ четко выявлялась одна полоса (фракция), поэтому исследователи предположили, что белок S-100 является гомогенным белком, молекулярный вес которого они определили примерно в 20.000. Используя при электрофоретическом разделении 12,5%-ный ПААГ и 0,1%-ный додецилсульфат-Na, была также обнаружена одна фракция, но молекулярный вес ее оказался равным 7.000. При ультрацентрифугировании молекулярный вес данного белка также оказался близким к 21.000. В дальнейшем было показано, что молекулярный вес 7.000 соответствует одной субъединице. При электрофоретическом разделении с использованием высокой концентрации ПААГ обнаруживалось 5 фракций, причем все они реагировали с антисывороткой к белку S-100, следовательно, все фракции относились к белку S-100. Последующими многочисленными исследованиями было убедительно показано, что белок S-100 является гетерогенным белком, и относится к гликопротеидам. Гетерогенность этого белка обусловлена рядом особенностей его структуры и состава: а) количеством субъединиц, входящих в молекулу данного белка; б) взаимодействием ионов  $\text{Ca}^{2+}$  с SH-группами субъединиц, в результате которого происходят конформационные изменения и появляются множественные формы белка; в) влиянием способа выделения и очистки белка S-100, возникновением агрегации и образованием более сложных комплексов; г) содержанием углеводного компонента в молекуле белка S-100 и т. д.



В настоящее время нет единого мнения о количестве субъединиц, входящих в состав данного белка, и об их идентичности. По данным Мура, молекулярный вес белка равен примерно 20.000, и состоит он из 2-х субъединиц. Если условно субъединицы обозначать через  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , то они могут соединяться друг с другом в различной последовательности:  $\alpha-\beta$ ,  $\alpha-\gamma$ ,  $\beta-\gamma$ ,  $\beta-\beta$ , и т. д. В дальнейшем разделение белка S-100 производилось различными способами. Например, с помощью сефадекса G-100 этот белок можно разделить на 5 фракций —  $f_1$ ,  $f_2$ ,  $f_3$ ,  $f_4$  и  $f_5$ , причем 80—85% всего белка приходится на долю первой фракции, на последующей стадии очистки фракции  $f_1$  делится на три подфракции: A, B и C. При этом основная масса белка содержится во фракции C, молекулярный вес которой равен 19.000—22.000. По-видимому, фракция C представляет собой гомогенный белок с молекулярным весом 20.000—21.000, что же касается молекулярного веса фракций A и B, то он значительно выше — 32.000—43.000.

Мандель и его сотрудники разработали способ выделения и разделения белка S-100, применив неорганический сорбент гидроксил-апатит. Они установили, что белок S-100 состоит из 2-х фракций, быстро и медленно движущихся. В сером веществе больших полушарий и в мозжечке содержится в основном быстро движущаяся фракция, в белом веществе, напротив, преобладает медленно движущаяся фракция белка. При электрофоретическом разделении белка S-100 с применением ПААГ и агар-агарового геля также было обнаружено две фракции: одна — быстро движущаяся, а другая медленно. Скорость движения фракции определяется аминокислотным составом субъединиц белка S-100 (табл. 35).

Таблица 35

Аминокислотный состав белка S-100, % (Moore, 1965 — I; Danmes, Levine, 1971 — II)

Аминокислота	I	II	Аминокислота	I	II	Аминокислота	I	II
Глу	36	36	Тре	8	7	Лей	17	18
Асп	21	22	Цис	3	4	Вал	6	6
Лиз	17	28	Три	1	1	Вал	13	15
Гис	8	8	Тир	3	3	Ала	12	12
Арг	3	2	Про	1	—	Гли	9	10
Сер	10	11	Фен	16	12	Мет	4	5

Таким образом, кислые свойства белка S-100 объясняются высоким содержанием глутаминовой и аспарагиновой кислот, от присутствия цистеина зависит число SH-групп, которые, как уже указывалось, взаимодействуют с ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , вызывая конформационные изменения молекулы белка, что в значитель-



ной мере обусловлено появлением множественных форм данного белка. Рассчитано, что на молекулу белка приходится 8—10% SH-групп, взаимодействующих с ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , ионы  $\text{Mg}^{2+}$  не реагируют с ним, а эффект действия  $\text{Sr}^{2+}$  очень слаб. Благодаря высокому содержанию моноаминомонокарбоновых кислот (71—75%) в молекуле белка, при конформационных изменениях на его поверхности возникает повышенное количество гидрофобных групп. При изучении аминокислотного состава белка S-100 было также показано, что концевыми аминокислотами могут быть аспарагиновая, глутаминовая, глицин, серин, аланин, треонин, лизин и триптофан, причем ионы  $\text{Ca}^{2+}$  связываются с концевыми остатками триптофана.

Локализация белка S-100 как специфического белка нервной ткани являлась предметом многочисленных исследований. Белок S-100 обнаружен в ЦНС и ПНС всех позвоночных и некоторых беспозвоночных животных. Преимущественно он сосредоточен в нейроглии (85—90%), значительное количество содержится в астроцитах, в нейронах не более 10—15%, в олигодендроцитах содержание его невелико.

В дальнейшем, используя радиохимические, цитохимические, иммунохимические методы и метод иммунофлуоресценции, было установлено, что основная масса (85%) белка S-100 содержится в цитоплазме и только около 15% — в мембранных структурах. В ядре нейронов его содержание крайне невелико, больше содержится в ядрышках, где происходит более интенсивный биосинтез данного белка.

Мур и другие авторы исследовали интенсивность биосинтеза белка S-100 в процессе онтогенеза у человека и животных. Оказалось, что белок S-100 появляется на 10—15-й неделе в мозгу эмбриона человека в различных отделах мозга: мозжечке, Варолиевом мосту, стволе мозга, среднем и спинном мозгу и т. д. К 30-й неделе происходит отчетливое накопление белка S-100 во всех отделах ЦНС, кроме лобной доли, где повышение содержания белка совпадает с появлением биоэлектрической активности мозга.

Детально изучено накопление белка S-100 на этапах онтогенеза кур, мышей и крыс. Например, в мозгу мышей с 3 до 15 дней постнатального развития уровень данного белка оставался сравнительно низким, затем с 16-го до 22-го дня постнатального развития происходило резкое увеличение содержания его: оно возрастало в этот период примерно в 4 раза. Аналогичная картина наблюдалась в мозгу крыс с той только разницей, что наиболее интенсивное накопление данного белка происходило в период между 16-м и 24-м днями постнатального развития животного. При этом интенсивность синтеза белка S-100 в мозгу коррелирует с уровнем мРНК в соответствующих отделах головного мозга.



За последнее время значительно возрос интерес к вопросу о функциональной роли белка S-100. Установлено, что содержание данного белка возрастает при обучении и тренировках животных. Это подтверждается также тем, что в период обучения происходит более интенсивное включение меченых аминокислот в белок S-100 головного мозга. Хиден и его сотрудники обнаружили, что наиболее интенсивный биосинтез данного белка происходит в пирамидальных клетках гиппокампа. При интрацистернальном введении антисыворотки к белку S-100 процесс обучения у животных нарушался. Показано также, что у мышей инбредных линий количество белка S-100 в мозгу выше, чем у контрольных, у которых обучались эти животные быстрее, чем контрольные. Поэтому уровень данного белка в головном мозгу был ниже. По-видимому, не случайным является тот факт, что белок S-100, содержащийся в нейронах, преимущественно сосредоточен в синаптических мембранах и ядрышках нейронов.

Однако нельзя считать окончательно решенным вопрос о непосредственном участии белка S-100 в формировании и хранении памяти. Не исключена возможность, что участие данного белка опосредованно. Этим можно объяснить, что ряд авторов получили противоречивые данные относительно роли белка S-100 в формировании памяти.

На основании экспериментального материала и косвенных данных авторы высказывают несколько предположений о роли белка S-100 и возможных биохимических (молекулярных) механизмах, обеспечивающих участие данного белка в специфических функциях нервной деятельности.

1. Хиден и некоторые другие авторы считают возможным образование в ядрышках комплексов белка S-100 с ДНП, что вызывает депрессию матричной активности ДНК. Кроме того, интенсивно метаболизирующий белок S-100 может быть одним из связующих каналов между нейронами и нейроглией.

2. При выяснении роли белка S-100 большинство исследователей придает особое значение взаимосвязи SH-групп данного белка с ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , поскольку белок S-100, соединяясь с  $\text{Ca}^{2+}$ , изменяет свою конфигурацию. При этом на наружной поверхности молекулы белка возрастает число гидрофобных групп, белок S-100 становится более растворимым в липидах и легче проникает внутрь мембраны, где содержится повышенное количество ионов  $\text{K}^+$ . Здесь происходит связывание белка S-100 с  $\text{K}^+$ , что приводит к конформационным изменениям белка. Эта новая форма белка плохо растворяется в липидах, и белок направляется обратно на внешнюю поверхность мембраны, где происходит отщепление  $\text{K}^+$  и снова ионы  $\text{Ca}^{2+}$  присоединяются к белку S-100. По мнению Хидена, в постсинаптических мембранах кроме данного белка участвуют актиноподобные белки, входящие в состав филаментов. К этим белкам также легко присоединяются ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Таким образом, происхо-

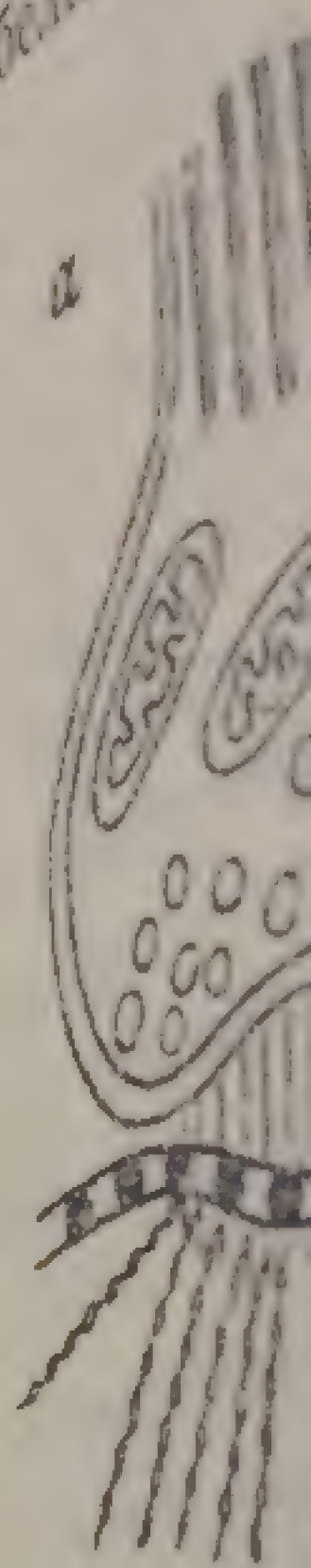


Рис. 20. М

а — мемб  
 $\text{Ca}^{2+}$ . Актинот  
тическую мем  
нопоподобный б

в присутствии  
ионами для ионов  
и SH-группами

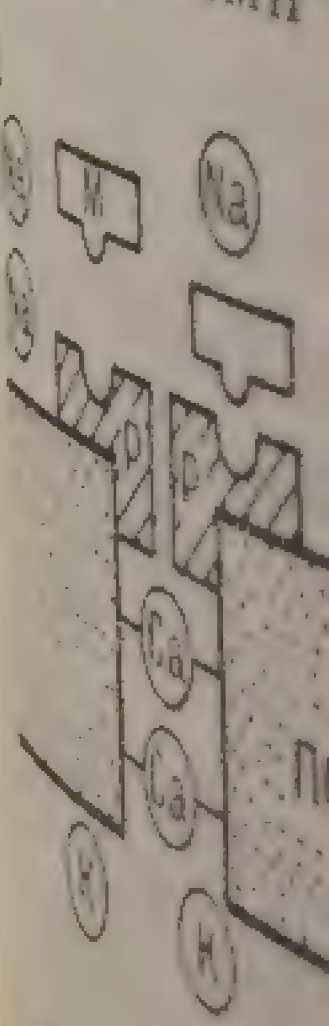


Рис. 21. Возм

в пос  
— провод  
молекуло  
медитате  
изменяет е  
ионное  
ионное



дид конкуренция за ионы  $\text{Ca}^{2+}$  между двумя белками, что наблюдается, например, в период проведения нервного импульса (рис. 20).

3. Высказывается также предположение о том, что при проведении нервного импульса важнейшим лимитирующим фактором являются не конформационные изменения белков, в том числе и белка S-100, а восстановление ионных каналов, кото-

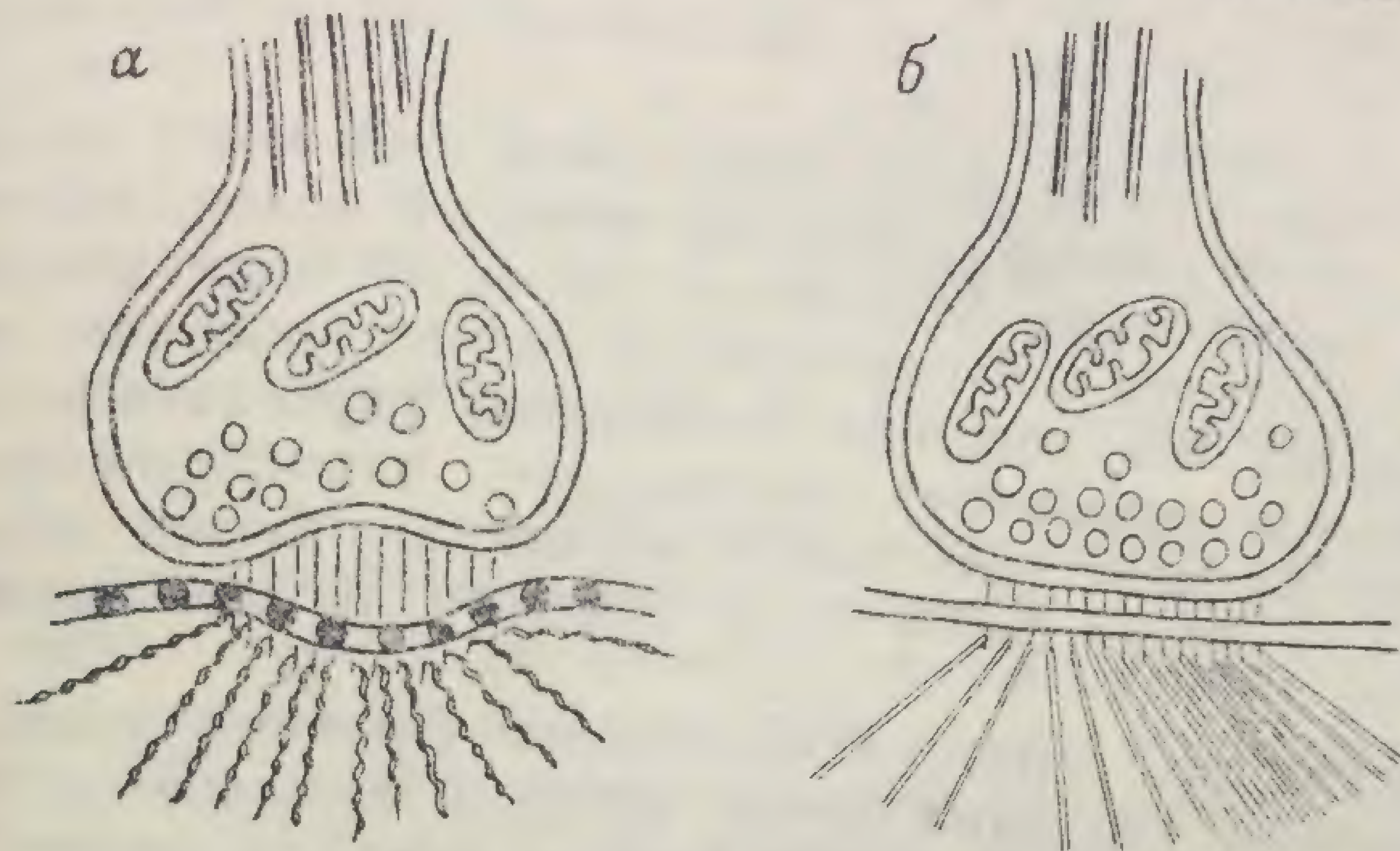


Рис. 20. Механизм модуляции синапса по Хидену (Глебов, 1976) *Старосельская 1977*

а — мембрана содержит белок S-100, связывающий ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Актиноподобный белок скручен и натягивает постсинаптическую мембрану; б — белка S-100 в мембране нет. Актиноподобный белок связывает ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и раскручивается. Синаптическая щель сужена.

рые в присутствии свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  становятся непроходимыми для ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ . Как только ионы  $\text{Ca}^{2+}$  соединяются с SH-группами белка S-100, ионные каналы в синаптических

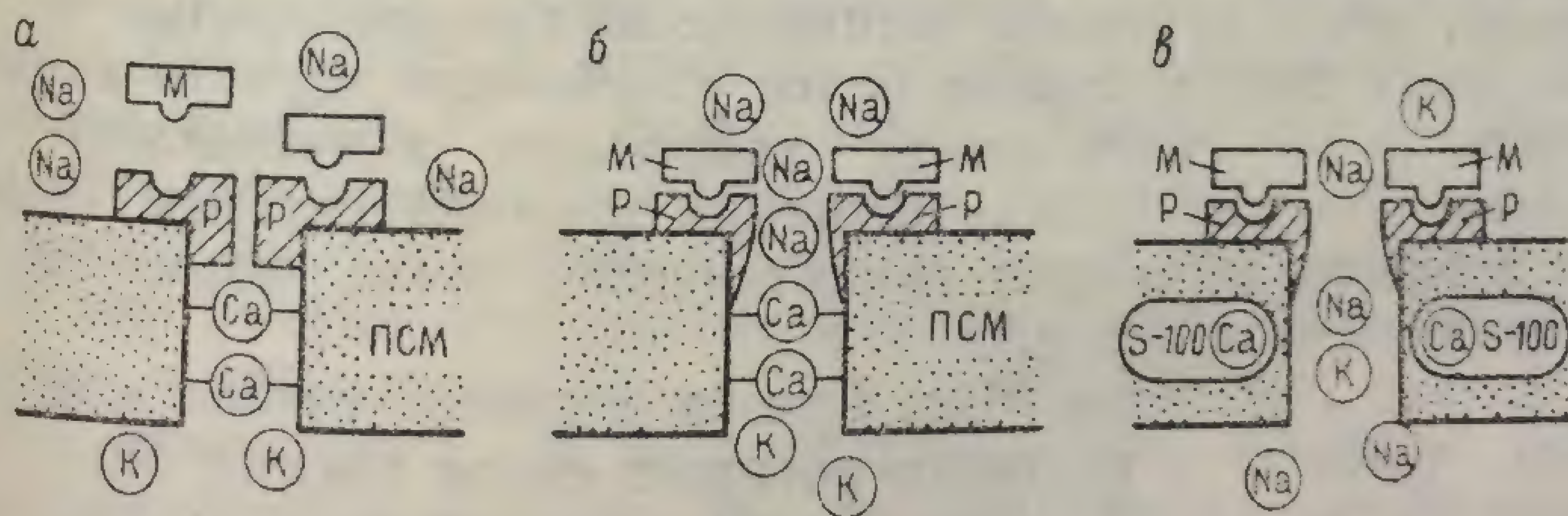


Рис. 21. Возможная модель функционирования белка S-100 в постсинаптической мембране (Глебов, 1976) *Старосельская 1977*.

а — проводящие каналы в постсинаптической мембране (ПСМ) закрыты молекулой рецептора-медиатора (Р) и ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , М — молекулы медиатора; б — молекула медиатора, присоединившись к рецептору, изменяет его конформацию, но канал блокирован ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , и возникновение постсинаптического потенциала невозможно; в — белок S-100 переносит ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в глубь мембраны и тем самым способствует повышению проницаемости ионных каналов для  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ , обеспечивая прохождение нервного импульса через синапс.



дит конкуренция за ионы  $\text{Ca}^{2+}$  между двумя белками, что наблюдается, например, в период проведения нервного импульса (рис. 20).

3. Высказывается также предположение о том, что при проведении нервного импульса важнейшим лимитирующим фактором являются не конформационные изменения белков, в том числе и белка S-100, а восстановление ионных каналов, кото-

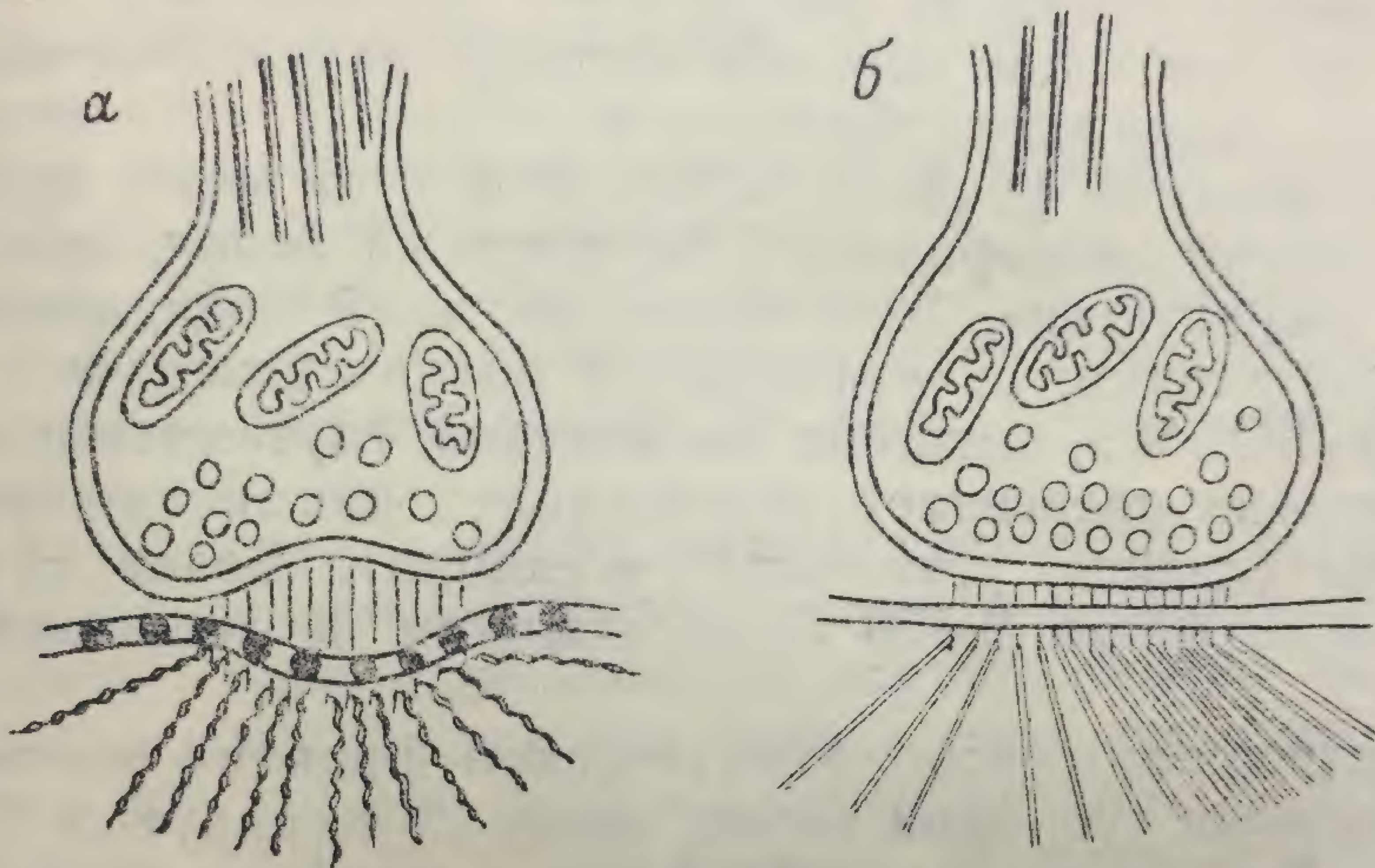
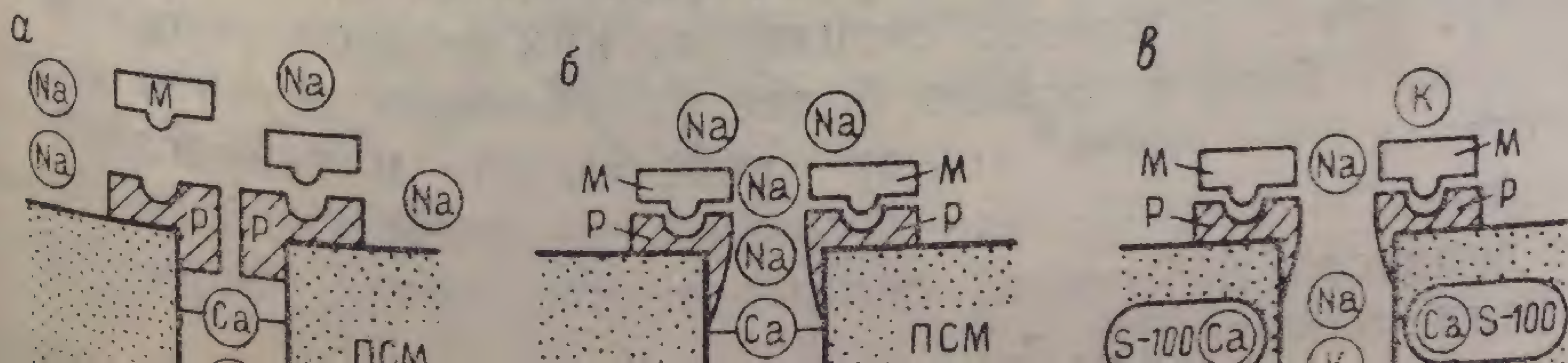


Рис. 20. Механизм модуляции синапса по Хидену  
(Глебов, 1976) *Старостина 1977*

*а* — мембрана содержит белок S-100, связывающий ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Актиноподобный белок скручен и натягивает постсинаптическую мембрану; *б* — белка S-100 в мембране нет. Актиноподобный белок связывает ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и раскручивается. Синаптическая щель сужена.

рые в присутствии свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  становятся непроходимыми для ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ . Как только ионы  $\text{Ca}^{2+}$  соединяются с SH-группами белка S-100, ионные каналы в синаптических





ведении... не конформационные изменения белков, в том числе и белка S-100, а восстановление ионных каналов, кото-

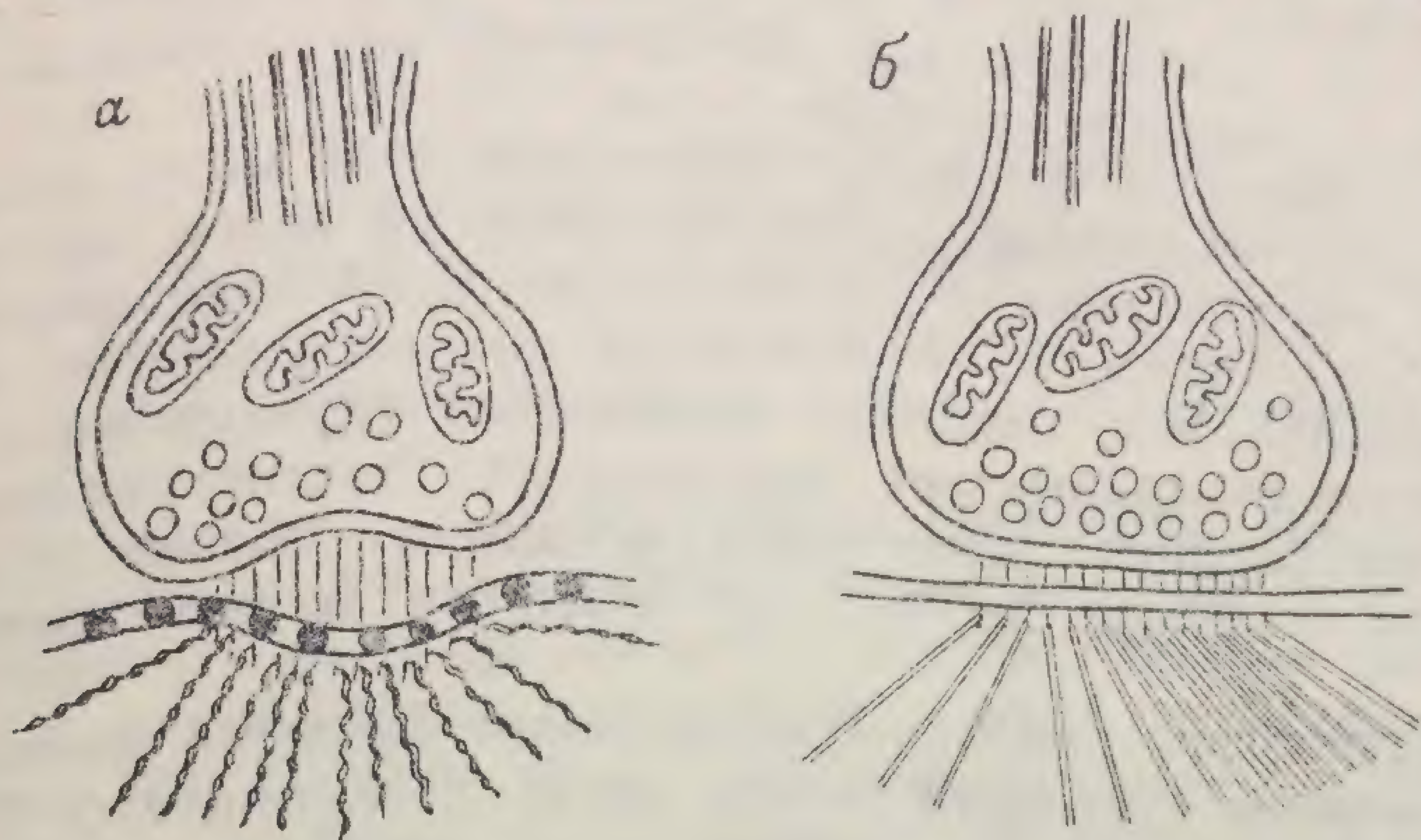


Рис. 20. Механизм модуляции синапса по Хидену (Глебов, 1976) *Старостина 1977*

*а* — мембрана содержит белок S-100, связывающий ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Актиноподобный белок скручен и натягивает постсинаптическую мембрану; *б* — белка S-100 в мембране нет. Актиноподобный белок связывает ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и раскручивается. Синаптическая щель сужена.

рые в присутствии свободных ионов  $\text{Ca}^{2+}$  становятся непроходимыми для ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ . Как только ионы  $\text{Ca}^{2+}$  соединяются с SH-группами белка S-100, ионные каналы в синаптических

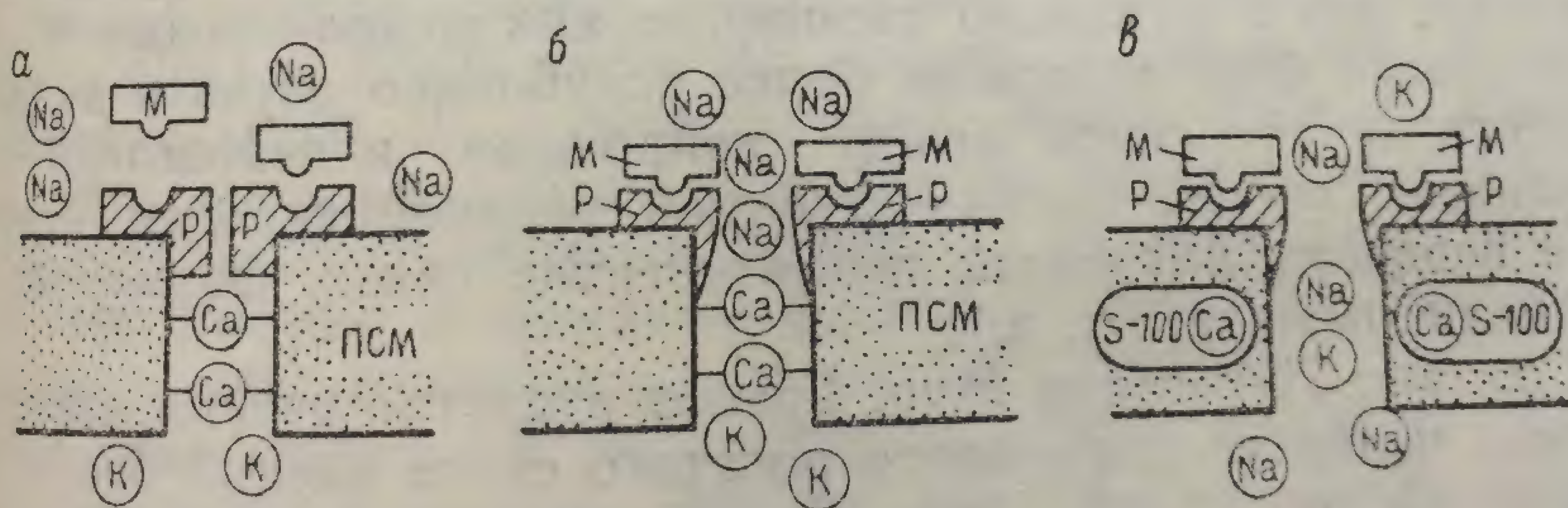


Рис. 21. Возможная модель функционирования белка S-100 в постсинаптической мембране (Глебов, 1976) *Старостина 1977*

*а* — проводящие каналы в постсинаптической мембране (PCM) закрыты молекулой рецептора-медиатора (P) и ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , M — молекулы медиатора; *б* — молекула медиатора, присоединившись к рецептору, изменяет его конформацию, но канал блокирован ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , и возникновение постсинаптического потенциала невозможно; *в* — белок S-100 переносит ионы  $\text{Ca}^{2+}$  в глубь мембраны и тем самым способствует повышению проницаемости ионных каналов для  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ , обеспечивая прохождение нервного импульса через синапс.



мембранах становятся открытыми для транспорта  $K^+$  и  $Na^+$ . По мнению ряда авторов, проницаемость постсинаптических мембран регулируется двумя системами: первая система — это рецепторы-нейромедиаторы (см. гл. 8); вторая система представляет собой комплекс белка S-100 с ионами  $Ca^{2+}$ . Проведение нервного импульса возможно только при синхронном функционировании двух систем (рис. 21). Таким образом, белок S-100 является одним из регуляторов проницаемости ионных каналов; он необходим для обеспечения разнообразных специфических функций нервной системы.

Из растворимой фракции белого вещества мозга крысы был выделен другой специфический антигенный белок, получивший название « $\alpha_2$ -антиген». Этот белок по своей подвижности близок к  $\gamma$ -глобулинам, он извлекается полунасыщенным раствором  $(NH_4)_2SO_4$ . В  $\alpha_2$ -антигене количество глутамата и аспартата значительно превышает содержание диаминомонокарбоновых кислот (лизина, аргинина, гистидина). Белок  $\alpha_2$ -антиген отличается от белка S-100 более высоким содержанием пролина.

Из растворимой цитоплазматической фракции мозговой ткани был выделен еще один белок, который элюируется 350 мкМ раствором NaCl и других нейтральных солей, поэтому был назван GP-350. Он также обнаружен в мембранах синапсом, но отсутствует в других органах и тканях животных и человека. Это дает основание считать белок GP-350 специфическим белком нервной ткани. Он характеризуется отчетливо выраженными кислыми свойствами и быстро соединяется с ионами  $Ca^{2+}$ .

Белок 14-3-2. Поскольку белок S-100 преимущественно локализован в нейроглии, естественно было стремление ученых ответить на вопрос, имеются ли специфические белки, которые в основном сосредоточены в нейронах. Кроме того, это важно еще и потому, что с помощью специфических нейрональных и нейроглиальных белков можно более углубленно изучить каналы, осуществляющие связь между нейронами и нейроглией при выполнении специфических функций нервной системы (проведение нервного импульса, синаптические связи, формирование и хранение памяти и т. д.).

В начале 70-х годов Мур, Грассо и другие ученые извлекли из мозга человека и крупного рогатого скота кислый белок, названный «белок 14-3-2». Этот белок оказался широко распространенным в ЦНС и ПНС млекопитающих и птиц. Количество его составляет примерно 1,5% от всех растворимых белков мозга. В отличие от белка S-100, белок 14-3-2 главным образом локализован в нейронах, напротив, в нейроглиальных клетках его содержание невелико. В других органах и тканях человека и животных этот белок отсутствует или обнаруживается в ничтожных количествах, примерно в 50—100 раз меньших, чем в сером веществе больших полушарий. Белок 14-3-2 также отли-



чается от белка S-100 тем, что он преимущественно находится в сером веществе, в то время как S-100 в основном сосредоточен в белом веществе. Иммунохимическим методом показано, что в постнатальный период развития головного мозга крыс белок 14-3-2 наиболее интенсивно синтезируется в пиппокампе и в синаптических мембранах. В опытах с дегенерацией зрительного нерва было обнаружено отчетливое уменьшение содержания и снижение метаболизма белка 14-3-2. Данный белок, как нейрональный, способен транспортироваться в аксоне со скоростью 2 мм/сут.

Кроме того, Муром из мозга был выделен кислый нейрохарактерен более медленный транспорт по аксональному току, чем для белка 14-3-2. В настоящее время окончательно не решен вопрос, являются ли эти два белка самостоятельными или это один белок.

Нейрофизины (НФ) преимущественно локализованы в задней доле гипофиза и гипоталамусе и представляют собой гетерогенную группу низкомолекулярных кислых белков. Нейрофизины исследованы у человека и ряда животных. Установлено, что НФ делятся на 3 основные фракции — НФ I, НФ II, 3-я фракция, которая менее изучена, обозначается НФ III или НФ-С; кроме того, обнаружены 4 минорные фракции. Молекулярный вес суммарной фракции НФ в среднем составляет около 10.000. Эти данные были получены с помощью электрофоретического разделения на сефадексе G-75. Содержание НФ у крыс в задней доле гипофиза в среднем равно 1540 нг (0,15 нмоля), а в гипоталамусе — 100 нг (0,01 нмоля); в плазме крови содержание НФ на 2—3 порядка ниже по сравнению с гипофизом и гипоталамусом.

Пептидная цепь НФ состоит в среднем из 91—95 аминокислотных остатков, причем N-концевым аминокислотным остатком в НФ I и НФ II является аланин, C-концевым в НФ I — лейцин, а в НФ II — фенилаланин. Кроме того показано, что 85—89% аминокислотных остатков являются идентичными у человека и исследованных животных. В молекуле всех фракций НФ имеется антигенный фактор. С помощью иммунохимических и гистологических методов установлено, что фракция НФ I синтезируется в паравентрикулярных ядрах, а НФ II — в супраоптическом ядре. Это подтверждается исследованиями на культурах тканей при использовании нейросекреторных клеток гипоталамуса 14-дневных эмбрионов мышей.

В интактном состоянии фракции нейрофизинов, по-видимому, находится в виде комплексных соединений с окситоцином или вазопрессином. Связь НФ с гипофизарными гормонами осуществляется фрагментом молекулы, находящимся в пределах 37—54-го аминокислотных остатков полипептидной цепи НФ. В нормальных условиях существует определенное моляр-



ное соотношение между НФ и гипофизарными гормонами. Так, в гипофизе это соотношение между НФ и окситоцином равно 1 : 10, в гипоталамусе — 1 : 14. При метилировании НФ, поскольку конформация белков молекулы изменяется, происходит изменение молярного соотношения между НФ и гипофизарными гормонами, однако наблюдается параллелизм: например, в опухолях легких увеличивается содержание как НФ, так и гипофизарных гормонов.

Применение ЯМР позволило показать, что происходит исключительно быстрый обмен (в пределах  $5 \cdot 10^{-8}$  с) гормона между комплексом НФ—окситоцин или НФ—вазопрессин и раствором, в котором содержится гормон. При изучении функциональной роли нейрофизинов одним из центральных вопросов является исследование взаимосвязи (корреляции) между НФ и гипофизарными гормонами. Высказывается предположение, что в задней доле гипофиза и в гипоталамусе синтезируются нанопептиды — нейрофизиновые комплексы, представляющие собой протогормоны, из которых синтезируются соответствующие гипофизарные гормоны.

### Гликопротеиды и их функциональная роль

В настоящее время гликопротеиды привлекают исключительное внимание исследователей. Они представляют собой чрезвычайно разнообразную гетерогенную группу белков. Хотя функциональная роль их изучена недостаточно, однако имеются убедительные косвенные данные, свидетельствующие об их специфически важной полифункциональной роли. Гликопротеиды являются важнейшими компонентами иммунохимических реакций, рецепторных функций, они участвуют в синаптической передаче, в узнавании нейронов по функциональному признаку, в проведении нервных импульсов, в формировании и хранении памяти и т. д. Они входят в состав сложных надмолекулярных образований синаптических мембран и других структурных образований нервной системы. Гликопротеиды локализованы в мембранах субклеточных структур нейронов и нейроглии и в эндоплазматическом ретикулуме.

В настоящее время биосинтез гликопротеидов исследуется интенсивно. Можно считать установленным, что пептидная часть синтезируется в рибосомальных гранулах независимо от биосинтеза углеводных компонентов. Далее биосинтез гликопротеидов происходит в следующей последовательности: синтезированная пептидная цепь транспортируется через эндоплазматический ретикулум в аппарат Гольджи, где происходит последовательное присоединение отдельных углеводных компонентов с участием гликозилтрансфераз (см. гл. 4), при этом N-ацетилнейраминовая кислота и фукоза присоединяются последними.



Ввиду гетерогенности и большого разнообразия гликопротеидов до сих пор не разработан единый принцип их классификации. В настоящее время наиболее часто гликопротеиды делят на 2 основные группы по количеству белков и углеводов в их составе.

Первая группа содержит от 5 до 40% углеводов и их производных. Белковая часть преимущественно состоит из альбуминов и глобулинов, содержание которых в среднем составляет от 55 до 95%. Между пептидной цепью гликопротеидов и углеводными компонентами существуют не только ковалентные связи, но и водородные, гидрофобные, ван-дер-ваальсовы силы и др. Поэтому связи между белковой частью и углеводными компонентами могут быть и непрочными.

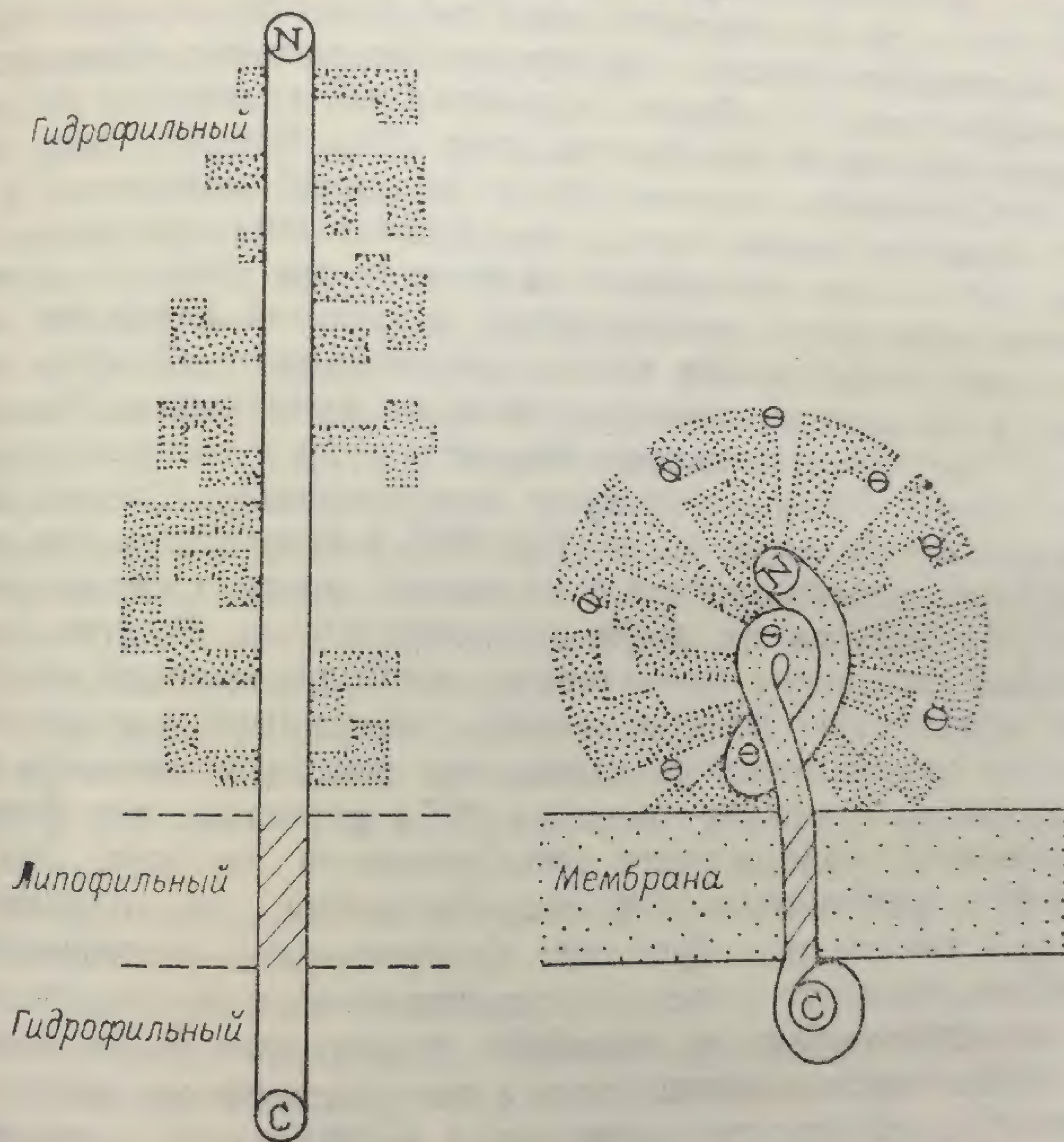


Рис. 22. Структура гликопротеида (Финеан и др., 1977).

Вторая группа гликопротеидов содержит углеводов от 40 до 85%, по своему составу они могут быть отнесены к гликолипопротеидам. Например, из серого вещества головного мозга человека был выделен гликолипопротеид с молекулярным весом  $1,8 \cdot 10^5$  (Розенберг), в состав молекулы которого входят 208 остатков галактозы, 26 — глюкозы, 36 — галактозамина, 150 остатков ацетилнейраминовой кислоты, 100 — лигноцери-



Первая группа гликопротеинов содержит от 5 до 40% углеводов и их производных. Белковая часть преимущественно состоит из альбуминов и глобулинов, содержание которых в среднем составляет от 55 до 95%. Между пептидной цепью гликопротеинов и углеводными компонентами существуют не только ковалентные связи, но и водородные, гидрофобные, ван-дер-ваальсовы и др. Поэтому связи между белковой частью и углеводными компонентами могут быть и непрочными.

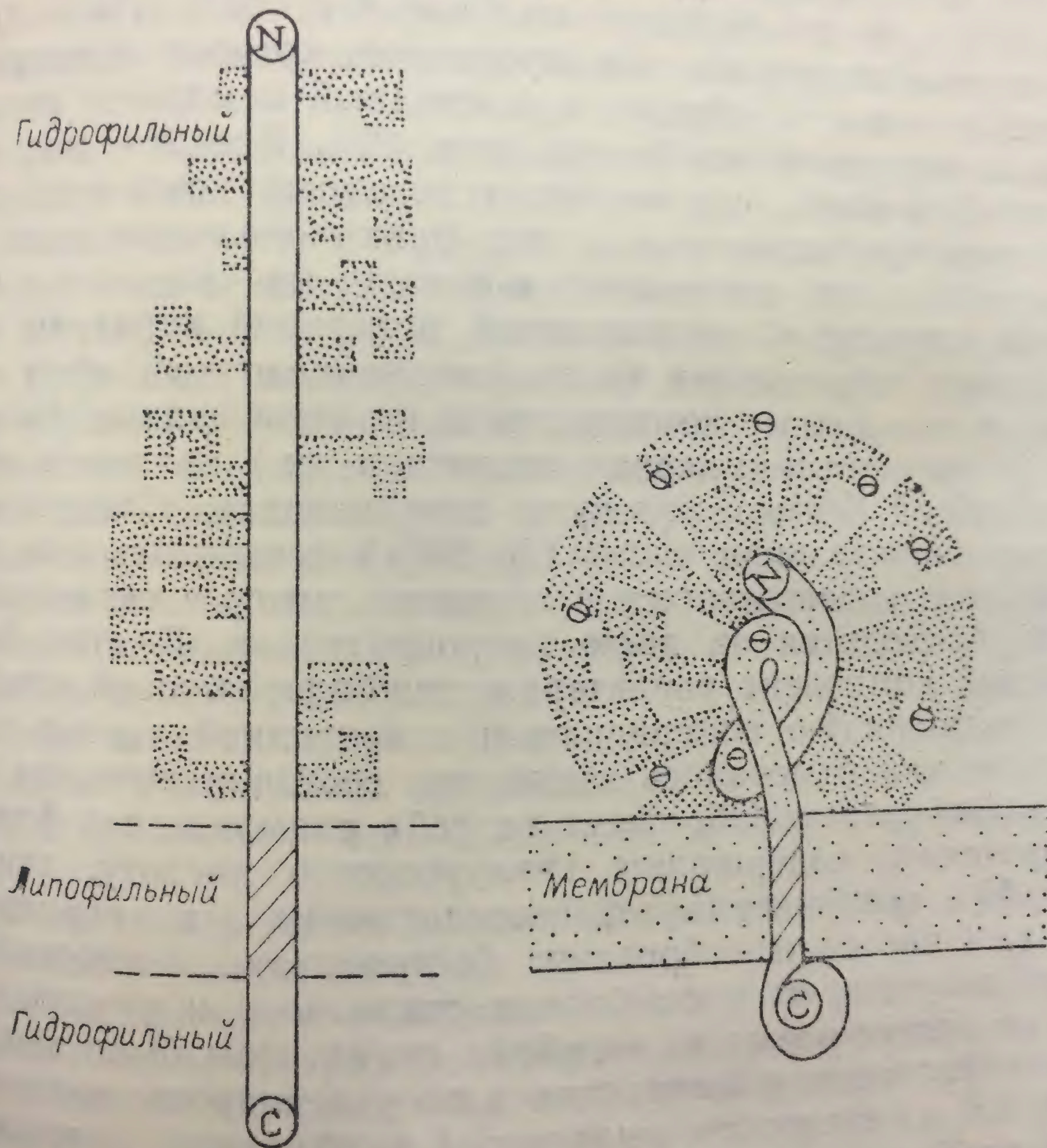


Рис. 22. Структура гликопротеида (Финеан и др., 1977).

Вторая группа гликопротеинов содержит углеводов от 40 до 85%, по своему составу они могут быть отнесены к глико-липидопро-... вещества головного мозга...



новой кислоты и 100—сфингозина. Пептидная цепь состоит из 61 аминокислотного остатка: 13 — глутамата, 10 — глицина, 10 — пролина, 8 — серина, 6 — аланина, остальные аминокислоты содержатся в незначительных количествах. Как видно, пептидная часть гликопротеидов менее разнообразна, чем углеводный компонент.

Следует также отметить, что N-ацетилнейраминная кислота и N-ацетилгалактозамин играют важную специфическую роль, определяя, по-видимому, своеобразие пространственной структуры гликопротеидов. Было обнаружено существенное различие в содержании N-ацетилнейраминной кислоты как в отдельных фракциях гликопротеидов, так и в различных мембранах субклеточных структур нейронов. Что же касается пептидной части, то она представляет собой стабильную часть, основу (каркас) молекулы гликопротеидов, которая фиксирована непосредственно в мембране, а углеводный компонент расположен на поверхности мембраны (рис. 22). Все это дает основание предполагать, что именно углеводный компонент в молекуле гликопротеидов определяет функциональную роль. Данное предположение основывается отчасти на аналогии с молекулярной структурой ганглиозидов, в которой каркасом молекулы служит керамидная часть (жирнокислотный эфир сфингозина), а углеводные компоненты и их производные (галактозамин, N-ацетилнейраминная кислота и др.) являются наиболее лабильной частью молекулы ганглиозидов. Следует отметить, что значительная часть (до 90%) всех углеводов и их производных, содержащихся в головном мозгу в связанном состоянии, приходится на долю гликопротеидов. В этих белках углеводный компонент характеризуется более высокой метаболической активностью по сравнению с пептидной частью гликопротеидов; как отмечалось выше, его состав отличается большим разнообразием. Обращает на себя внимание тот факт, что гликопротеиды, содержащие гиалуроновую кислоту, хондроитинсульфат, гепаринсульфат, сосредоточены в перикарионе нейрона, в аксоне и нейроглии (астроцитах, олигодендроцитах), но отсутствуют в мембранах синапсом и митохондриях.

За последнее время из мембран синапсом было выделено два гликопротеида, отличающихся по углеводному компоненту, а из везикул синапсом выделено 4 подфракции — возможно, это определяется разнообразием везикул и состоянием синапсом. Одно несомненно, что углеводный компонент определяет ряд специфических свойств гликопротеидов в их полифункциональной роли в разных микроструктурах головного мозга и других отделах нервной системы. Поэтому изучение специфических гликопротеидов как при нормальном состоянии взрослого и растущего организма, так и при разнообразных психических и неврологических заболеваниях человека является одной из актуальных проблем современной нейрохимии.



В настоящее время привлекают особое внимание гликопротеиды, участвующие в разнообразных иммунохимических процессах в головном мозгу и в других отделах нервной системы как в норме, так и при патологии. В этом отношении много сделано Богочем по изучению гликопротеидов, обладающих антигенными свойствами. В частности, широко используя метод иммуноэлектрофореза, Богоч обнаружил, что в растворимых белках головного мозга содержится не менее 11 антигенных белков, причем пять из них оказались специфическими белками нервной ткани. Остальные шесть белков были обнаружены также и в других тканях и органах.

Богоч разработал также метод выделения и разделения гликопротеидов на индивидуальные специфические фракции: 10B<sub>2</sub>, 10B<sub>1</sub> и 11A. Эти три белка отличаются друг от друга содержанием углеводного компонента и их производных. Кроме того, он установил, что в белом и сером веществе больших полушарий, спинном мозгу и периферической нервной системе локализован гликопротеид с высоким содержанием N-ацетилглюраминовой кислоты и большим количеством углеводов. Этот гликопротеид в мозгу эмбриона человека появляется в конце 6 — начале 7-го месяца. Данный белок играет определенную роль в процессе миелинизации, так как его появление совпадает с периодом миелинизации головного мозга. Исследования проводились в онтогенетическом аспекте на крысах и других животных. Установлено, что у новорожденных крыс среди растворимых белков нет специфических гликопротеидов, они появляются у крыс только на 5-й день после рождения. Затем, с 7-го по 15-й день в зоне преальбумина появляются три специфических антигенных белка, а в мозгу взрослых крыс обнаружен еще один гликопротеид в зоне преальбуминов. Следовательно, есть основания предполагать, что эти специфические белки в головном мозгу образуются в процессе его формирования.

За последнее время в нервной системе обнаружен ряд специфических белков, которые можно отнести к гликопротеидам или более сложным белковым комплексам, содержащим гликолипопротеид. Например, Богоч выделил из астроцитов опухоли человека гликопротеид, названный автором «белок 10B». Количество белка 10B в опухоли головного мозга было в 6 — 9 раз выше, чем в мозгу здорового человека. При болезни Тей—Сакса содержание белка 10B также было высоким, в 7—8 раз превышало его содержание в мозгу здоровых людей. Наличие резких количественных изменений отдельных представителей индивидуальных гликопротеидов при нейролипидозах свидетельствует о теснейшей связи метаболизма гликопротеидов с функциональным состоянием нервной системы как в нейронах, так и в нейроглии. Так, например, количественные изменения гликопротеида 10B наблюдаются при тренировках го-



лубей. Полагают, что этот гликопротеид в основном локализован в синапсах. По мнению Аграноффа, гликопротеид 10В участвует в биохимических процессах, происходящих во время обучения и тренировок.

### Сократительные белки нервной ткани

Сократительные белки (нейротубулин, актомиозинподобные, нейростенин и др.), входящие в состав нейронов и нейроглии, обнаружены сравнительно недавно и изучены недостаточно. Однако значение их в деятельности нервной системы безусловно велико, поскольку сложность и уникальность цитоморфологической структуры, а также выполнение разнообразных и специфических функций нервной системы возможно только при наличии сложных регуляторных механизмов, в том числе и специфических сократительных белков, которые обеспечивают динамичность нервной системы, участвуя в самосборке и распаде специфических микроструктур нервной ткани — микротрубочек (нейротубул), нейрофиламентов и других пресинаптических и постсинаптических образований.

Микротрубочки и нейрофиламенты являются важнейшими цитоструктурными образованиями, обладающими контрактильными свойствами. В их состав входит ряд белков и ферментов, ответственных за биосинтез и распад их: протеинкиназа, АТФаза, ГТФаза, аденилаткиназа, нуклеозиддифосфаткиназа и др. Микротрубочки и нейрофиламенты участвуют в прямом и ретроградном транспорте надмолекулярных образований, нуклеиновых кислот, белков, сложных липидов и других метаболитов по аксону от тела нейрона до синаптических окончаний и обратно, а также в движении метаболитов локально в тех или иных субклеточных структурах нейронов. Они изменяются при различных функциональных состояниях и, являясь динамическими структурами, могут влиять на топографию поверхности нейрона и на мозаичность нейрональных мембран. Не менее важно их значение в самосборке микроструктур и надмолекулярных комплексов, а также в поддержании определенной конфигурации микроструктур. Эти процессы идут с затратой энергии, при определенном уровне макроэргических систем  $ГТФ \rightleftharpoons ГДФ$  и  $АТФ \rightleftharpoons АДФ$  и активности соответствующих ферментов.

Микротрубочки (нейротубулы) представляют собой цитоструктурные образования цилиндрической формы, диаметр которых достигает 24 нм, а длина нескольких мкм. Основная масса белка, входящего в состав микротрубочек, приходится на долю нейротубулина, который в микротрубочках находится в виде полимеров, состоящих из 10—14 молекул нейротубулина. При деполимеризации микротрубочек, выделенных из мозга, было обнаружено два компонента: один из них высокомолеку-



лярный с диаметром 40—50 нм, состоящий из колец, и второй низкомолекулярный с размером частиц 5—10 нм. Анализ этих компонентов с помощью электрофореза в ПААГ и ДДФ показал, что низкомолекулярный компонент преимущественно состоит из нейротубулина, а высокомолекулярный кроме нейротубулина содержит на своей поверхности нейрофиламентные образования.

Нейрофиламенты имеют глобулярную структуру и образуются из спирально скрученных нитевидных образований, диаметр их колеблется в пределах 5—12 нм. Филаменты размером 5—6 нм называются микрофиламентами. Состав белков нейротубулина филаменты содержат сравнительно много актомиозинподобных белков, особенно актина. Растворимые белки филаментов по своим свойствам близки к альбуминам. В состав нейрофиламентов также входит коллаген, который может быть удален с помощью коллагеназы. При изучении белков нейрональных филаментов мозга человека и животных (быка и крысы) была обнаружена видовая специфичность. В филаментах мозга имеется 3 фракции, причем у всех 1-я фракция составляет 90%, ее молекулярный вес примерно  $5 \cdot 10^4$ . Кроме того, в нейрональных филаментах имеются 2-я и 3-я фракции, молекулярный вес которых  $1,1 \cdot 10^5$ — $1,5 \cdot 10^5$ . По молекулярному весу белки мозга человека и животных отличаются друг от друга, что, вероятно, можно объяснить видовой специфичностью. Что же касается нейроглии, то в ней обнаружена только одна фракция, средний молекулярный вес которой  $4,9 \cdot 10^5$ .

Нейротубулин — один из наиболее распространенных белков нервной ткани и важнейший белок микротрубочек. Его количество достигает 15% от суммы растворимых белков нервной ткани. В период формирования и увеличения размера мозга содержание нейротубулина еще больше. Так, например, нейротубулин, выделенный из мозга эмбрионов кур, составляет примерно 20% от всех белков мозга, причем полисомы эмбрионов кур мозговой ткани значительно интенсивнее синтезируют нейротубулин, чем полисомы поперечно-полосатых мышц, содержание тубулина в которых составляет около 5%, т. е. в 4 раза меньше, чем в мозгу. Следует отметить, что нейротубулин, даже очищенный, обладает фосфокиназной и протеинкиназной активностью, так как эти ферменты, по-видимому, являются обязательными компонентами нейротубулина.

Нейротубулин является димером, в его состав входят 2 субъединицы:  $\alpha$ -тубулин и  $\beta$ -тубулин. Молекулярный вес нейротубулина, выделенного из мозга человека и разных животных, определялся многократно. Для мономеров он составляет  $5,0 \cdot 10^4$  и  $6 \cdot 10^4$ , соответственно молекулярный вес димера равен  $1,0 \cdot 10^5$ — $1,2 \cdot 10^5$ . Эти колебания можно объяснить видовой специфичностью, способом выделения и очистки мономеров. В мо-



лекуле нейротубулина содержится около 1% углеводов, поэтому его относят к гликопротеидам.

Нейротубулин является кислым белком, в его составе глутаминовой и аспарагиновой кислот содержится около 20% от всех аминокислот, входящих в состав нейротубулинов. При изучении пептидного состава молекулы нейротубулина были использованы тубулины, выделенные из микротрубочек мозга куриного эмбриона и сперматозоидов морского ежа. При этом оказалось, что пептидная карта относительно сходна. Например, из 9 пептидов, входящих в молекулы  $\alpha$ - и  $\beta$ -тубулинов, пять пептидов были идентичными. Это дало основание сделать вывод, что тубулины являются относительно стабильными (консервативными) белками в эволюционном плане. Наиболее высокое содержание нейротубулина обнаружено в аксоплазме.

Характерной особенностью нейротубулина является его способность к полимеризации, можно полагать поэтому, что нейротубулин в нативном состоянии находится в виде полимера. В состав полимеров входят 10—14 и более субъединиц, связанных между собой водородными связями, а также ван-дер-ваальсовыми силами и др. Эти связи, как правило, непрочные, поэтому изменение температуры, давления, химические и другие воздействия могут вызвать деполимеризацию нативного нейротубулина.

Процесс полимеризации и деполимеризации, очевидно, имеет большое значение в функционировании нейротрубочек при интактном состоянии животного организма. Достаточно полно он изучен в опытах *in vitro*, в которых использовался очищенный нейротубулин, обладающий фосфокиназной и протеинкиназной активностью. Поскольку процесс полимеризации связан с затратой энергии (28 ккал/моль нейротубулина), то в реакционную систему добавляли макроэргии (ГТФ, АТФ) из расчета на одну молекулу тубулина не менее двух ГТФ. В реакционную смесь для активирования протеинкиназы вводили цАМФ и ионы  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ , присутствие которых также необходимо. Следует отметить, что к нейротубулину быстро присоединяются системы  $ГТФ \rightleftharpoons ГДФ$ ,  $АТФ \rightleftharpoons АДФ$ . Установлено, что наиболее интенсивно происходит полимеризация при температуре 37°C и pH 6,6—6,7. Об интенсивности полимеризации можно судить по включению метки в полимер. Если в реакционную систему добавить  $^3H$ -тирозин, то через 3 мин после введения меченой кислоты в полимере нейротубулина можно обнаружить 7% метки от всей введенной меченой аминокислоты. При снижении температуры от 37 до 15°C отчетливо уменьшается интенсивность полимеризации, а при температуре 0°C наблюдается обратный процесс, т. е. деполимеризация нейротубулина. Интенсивность полимеризации, как правило, определяется по повышению вязкости с помощью вискозиметра и другими методами. Рассмотренные данные в опыте *in vitro* позволяют представить



те условия, при которых протекает самосборка надмолекулярных образований и цитомикроструктур в аксоплазме, пре- и постсинаптических образованиях. Эти процессы особенно интенсивно и постоянно протекают в нервной ткани.

Актомиозинподобные белки также можно отнести к сократительным белкам нервной ткани. Они мало исследованы и только в настоящее время начинают быть предметом интенсивного изучения. Актомиозинподобные белки извлекались различными способами из целого мозга и из разных отделов нервной системы. Особое внимание было обращено на извлечение их из развивающихся нейронов, из культуры нейронов и синаптических образований. При использовании электрофореза в полиакриламидном геле и додецилсульфате натрия удалось установить, что в развивающемся мозгу и в культуре нейронов содержание актинподобных белков достигает 8% от всех извлеченных белков, а миозинподобных белков — около 0,5%, у взрослых животных их содержание еще меньше. Установлено также, что актинподобный белок входит в состав нейрофиламентов, по аминокислотному составу и первичной структуре он близок к мышечному F-актину.

Миозинподобные белки, извлеченные из мозга и синаптических образований, а также из культивируемых клеток нейробластов, имеют сходство с мышечным миозином по форме и размерам молекулы и по наличию соответствующих ферментов. Миозинподобные белки нервной ткани отличаются от мышечного миозина последовательностью аминокислотного состава и способностью к агрегации. Роль актомиозинподобных белков нервной ткани пока не выяснена, имеются только некоторые данные, позволяющие делать те или иные предположения. По-видимому, эти белки участвуют в аксональном токе, освобождении транмиттеров в синапсах. Кроме того, актомиозинподобные белки были обнаружены в конусе роста, где содержалось их большое количество, в отличие от культуры нейробластов, где количество этих белков было невелико. Имеются косвенные данные о том, что в нативном состоянии актинподобные и миозинподобные белки находятся в виде комплексов, чувствительных к митогенетическим ядам. В отдельности эти белки, наоборот, малочувствительны к митогенетическим ядам.

Нейростенин относится к фибриллярным белкам, он представляет собой актомиозинподобный белок нервной ткани. Нейростенин состоит из 2 белков, один называется нейрином, второй — стенином. Взаимодействуя между собой, они образуют полимер, молекулярный вес которого равен  $4,7 \cdot 10^4$ — $5,0 \cdot 10^4$ . Нейростенин обладает АТФазной активностью и активируется ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ . Количество нейростенина составляет 1—2% от общего белка мозга, однако в синаптических образованиях его содержание достигает 8—10%. Наличие в молекуле нейростенина 3-метилгистидина способствует последующей по-



лимеризации молекул, и молекулярный вес белка достигает  $4,5 \cdot 10^5$ . Этот комплекс состоит из 2 тяжелых субъединиц с молекулярным весом  $2,4 \cdot 10^5$ . Нейрин локализован преимущественно в пресинаптических мембранах, а стенин — на наружной поверхности мембран везикул. С участием нейростенина в присутствии АТФ и ионов  $\text{Ca}^{2+}$  осуществляется контакт внешней мембраны везикул с пресинаптическими мембранами. АТФазная активность в пресинаптических мембранах относительно велика. Таким образом, контрактильные белки мозга, в том числе нейростенин, обеспечивают раскрытие везикул и выход нейротрансмиттеров в цитоплазму нейрона (аксоплазму и т. д.).

### Катионные белки

За последнее время в головном мозгу были обнаружены и изучены специфические белки, обладающие основными свойствами. При электрофоретическом разделении они движутся к катоду при pH 8,6 и выше. По своему составу, физико-химическим и биологическим свойствам основные белки представляют собой разнообразный класс катионных белков. Как известно, основные белки легко реагируют с нуклеиновыми кислотами, углеводами, кислыми липидами, образуя сложные гетерогенные комплексы, участвующие во многих биохимических процессах, лежащих в основе тех или иных функций — проницаемости, возникновении и проведении нервных импульсов и в ряде других.

Из белого вещества головного мозга сначала извлекаются кислые белки, а затем из них выделяют липиды. После соответствующей обработки выделяется основной белок, количество которого составляет примерно 1% от сырого веса белого вещества мозга. Этот белок делится на 2 и более фракций, в которых обнаружено большое количество основных аминокислот.

Мак-Ильвейн и его сотрудники в многочисленных опытах на срезах мозга наблюдали, что растворимые основные белки повышали способность нейронов отвечать на электрические раздражения. Эти белки могут вызывать экспериментальный аллергический энцефаломиелит. Однако мозг эмбрионов и новорожденных животных не содержит энцефалитогенов, белки незрелого мозга крыс также не имеют энцефалитогенных белков. В дальнейшем было установлено, что энцефалитогенные белки в мозгу человека обнаруживаются только через 7—8 месяцев после рождения. Это в значительной мере повысило интерес к основным белкам, и они стали предметом интенсивного и углубленного изучения.

Мур и другие авторы, изучая аминокислотный состав катионных белков головного мозга, установили, что в состав этих белков значительно больше входит лизина, гистидина, аргинина, а также большое количество глутаминовой и аспарагино-



вой кислот. При этом оказалось, что в основных белках около половины моноаминодикарбоновых кислот содержится в виде амидов, преимущественно в виде глутамина. В дальнейшем основной белок был электрофоретически разделен на 15 фракций (зон), причем в 15-й зоне было обнаружено более высокое содержание лейцина, валина и пролина. Следовательно, отдельные фракции могут существенно отличаться друг от друга аминокислотным составом, это проявляется особенно отчетливо, если основные белки выделить из различных отделов нервной ткани (из ЦНС и ПНС).

Из мозга 73-летнего человека был выделен и очищен белок, который электрофоретически делился на 18 фракций. Далее оказалось, что 5 фракций представляли собой специфические белки серого вещества головного мозга, а 6 фракций были обнаружены только в белом веществе, при этом белки белого вещества обладали более высокой электрофоретической подвижностью и меньшим молекулярным весом по сравнению с белками серого вещества. Остальные 7 фракций входили в состав как серого, так и белого вещества.

Из мозга крупного рогатого скота были также выделены и детально изучены основные белки, которые электрофоретически и хроматографически делились на 15 фракций (зон). Было показано, что основной белок 15-й электрофоретической зоны активирует  $K^+$ ,  $Na^+$ -зависимую АТФазу, а  $Mg^{2+}$ , напротив, тормозит. Основные белки влияют и на активность ряда других ферментов, например на дезаминазы адениловой и гуаниловой кислот. Неоднократно определялся молекулярный вес катионных белков нервной ткани. Оказалось, что он колеблется в пределах от 6000—10.000 до 35.000—40.000. Впоследствии было установлено, что молекулярный вес зависит от локализации белка в различных субклеточных элементах нейронов, от методов очистки и от того, какая электрофоретическая или хроматографическая фракция (зона) взята для определения молекулярного веса. Дальнейшие исследования показали, что многие основные белки и протеолипиды нервной ткани обладают энцефалитогенной активностью. Так, был выделен ряд энцефалитогенных основных белков из миелина белого вещества головного и спинного мозга с молекулярным весом от 14.000 до 20.000. Позднее был получен высокоочищенный основной белок с молекулярным весом 10.000. При инъекции этого белка у морских свинок возникал экспериментальный аллергический энцефаломиелит.

В дальнейшем многие основные белки, выделенные из нервной ткани, испытывались на способность вызывать аллергический энцефалит. Оказалось, что энцефалитогенной активностью обладают не только белки, но и полипептиды с молекулярным весом 4000—6000, которые легко образуют сложные комплексы с фосфолипидами, ганглиозидами, в нативном со-



стоянии, по-видимому, входящие в состав протеолипидов. Причем, нейропептиды, выделенные из протеолипидов миелина, также обладают энцефалитогенной активностью. Эти полипептиды и пептиды подвергались разделению и очистке, полученные соединения имели молекулярный вес 1500—3500.

В настоящее время нейропептидам приписывают огромную роль в деятельности нервной системы. По всей вероятности они могут являться связующими звеньями разнообразных биохимических процессов, в которых участвуют нейромедиаторы, гормоны и разнообразные психофармакологические вещества, усиливая или ослабляя биохимические процессы, происходящие в головном мозгу и в других отделах нервной системы. Следовательно, нейропептиды оказывают существенное влияние на функционирование нервной системы.

#### 6.5. ИНТЕНСИВНОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА БЕЛКОВ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Современное представление о динамическом состоянии белков в нервной ткани было установлено благодаря применению изотопов Палладиным, Владимировым, Рихтером, Велшем, Лайтом и другими исследователями. Начиная с конца 50-х и в течение 60-х годов при изучении метаболизма белка использовались различные предшественники их биосинтеза (аминокислоты, глюкоза, ацетат и др.), меченые  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{35}\text{S}$ , а также применялся  $^{32}\text{P}$  в виде фосфатных солей. При этом было убедительно показано, что многие белки и аминокислоты головного мозга взрослого животного в интактном состоянии интенсивно метаболизируют. В дальнейшем интенсивность обмена белка в нервной системе была подтверждена многочисленными исследованиями при проведении экспериментов с разными возрастными группами и на различных представителях животных. Например, в опытах *in vivo* при применении в качестве предшественника равномерно меченой  $^{14}\text{C}$ -1-6-глюкозы оказалось, что она используется в биосинтезе аминокислот с различной интенсивностью в разных органах одного и того же животного. Если удельную активность (УА) суммарных аминокислот головного мозга условно принять за 1, то УА аминокислот других органов и тканей может быть выражена в следующих величинах: кровь — 0,2; печень — 0,15—0,25; селезенка и легкие — 0,10—0,15 и мышца — 0,05—0,07, т. е. исследуемые органы по интенсивности образования аминокислот за счет глюкозы можно расположить в следующем порядке: головной мозг > кровь > печень > селезенка и легкие > мышца. Аналогичная картина наблюдалась при использовании и других меченых предшественников.

В нашей и других лабораториях было показано, что из  $^{14}\text{C}$ -ацетата в головном мозгу интенсивно синтезируется угле-



родный скелет аминокислот, особенно моноаминодикарбоновых кислот и прежде всего глутамата; из моноаминомонокарбоновых кислот достаточно интенсивно образуются глицин, аланин, серин и др. Следует отметить, что особое место в метаболизме аминокислот занимает глутамат. Такахаши в опытах *in vitro* с использованием меченого глутамата показал, что если в реакционную среду гомогената мозга добавить только одну глутаминовую кислоту, то она может быть источником образования 90—95% аминокислот.

Кроме того, были проведены многочисленные исследования по изучению различий в интенсивности метаболизма суммарных и индивидуальных белков с помощью меченых предшественников. В опытах *in vivo* при использовании  $^{14}\text{C}$ -глутамата было показано, что глутаминовая кислота включает в 4—7 раз интенсивнее в белки серого вещества, чем белого. Во всех случаях интенсивность обмена суммарных белков серого вещества больших полушарий мозга и мозжечка оказывалась значительно выше, чем белого вещества тех же отделов мозга, какой бы предшественник ни применялся при исследовании. При этом различие интенсивности обмена суммарных белков серого вещества по сравнению с белками белого вещества имеет место не только в норме, но, как правило, и при различных функциональных состояниях организма.

Проводились также исследования по изучению различий в интенсивности включения меченых предшественников в суммарные белки ЦНС и ПНС. Все это позволяет сделать вывод о том, что несмотря на существенные различия в составе, метаболизме и функциональной деятельности различных отделов ЦНС и ПНС, а также на сложность и гетерогенность белков, входящих в состав ЦНС и ПНС, суммарные белки ЦНС взрослых животных обновляются значительно интенсивнее, чем суммарные белки ПНС. Много исследований посвящено метаболизму белков в различных отделах головного мозга. Например, при изучении распределения радиоактивности в головном мозгу после введения  $^{14}\text{C}$ -глутамата оказалось, что на долю серого вещества больших полушарий приходится 67,5% радиоактивности, мозжечка — 16,4%, продолговатого мозга — 4,4%, на долю других отделов головного мозга — около 11,7%. Таким образом, было убедительно показано, что интенсивность обмена суммарных белков различных отделов головного мозга неодинакова. Так, в опытах *in vivo* при введении взрослым животным в норме одного из предшественников, а именно  $^{14}\text{C}$ -глутамата,  $^{14}\text{C}$ -1-6-глюкозы,  $^{14}\text{C}$ -2-ацетата и других, оказалось, что по интенсивности включения метки в суммарные белки различные отделы нервной системы располагаются в следующей последовательности: серое вещество больших полушарий и мозжечка > таламус > зрительный бугор > средний и промежуточный мозг > Варолиев мост > продолговатый мозг > белое вещество



больших полушарий и мозжечка > спинной мозг > седалищный нерв > миелин.

Проводились также исследования, посвященные изучению интенсивности обмена белков в различных отделах ЦНС с использованием автордиографического метода. Получена аналогичная картина, а именно: наиболее интенсивное включение метки имело место в белках серого вещества больших полушарий и мозжечка, медленнее в спинном мозгу и еще медленнее — в белках седалищного нерва. Что же касается подкорковых образований, то интенсивность обмена их белков была средней между скоростью обновления белков серого и белого вещества больших полушарий и мозжечка. При этом следует отметить, что между отдельными подкорковыми образованиями наблюдаются менее существенные различия, чем между метаболической активностью белков серого и белого вещества. Следовательно, суммарные белки различных отделов ЦНС характеризуются не только различием в количественном и качественном составе, но они существенно отличаются друг от друга по своей метаболической активности в разных отделах ЦНС.

Кроме того, исследовались также суммарные белки различных областей (долей) коры больших полушарий — лобной, височных, теменной и затылочной. По данным Велша и Палладина, более высокой обновляемостью обладают белки сенсорной области коры, а более низкой — белки височной доли коры больших полушарий. Эти же авторы показали, что более высокая обновляемость белков характерна для филогенетически более молодых и функционально более активных структурных образований мозга.

Проводились также исследования по изучению метаболизма различных групп белков, фракций и отдельных представителей белковых веществ. Так, при использовании глюкозы, меченной по углероду  $^{14}\text{C}$ , а также аминокислот, меченных по  $^{14}\text{C}$  и  $^{35}\text{S}$ , было убедительно показано, что обновляемость белков, растворимых в воде и солевых растворах, более высокая в отличие от белков мозга, нерастворимых в нейтральных солях, причем интенсивность включения аминокислот в белки зависит также от концентрации ионов  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , что удалось установить в опытах на срезах мозга.

Липопротеиды, как известно, составляют основную массу серого и белого вещества мозга. Они характеризуются неодинаковой обновляемостью в различных отделах ЦНС. Так, наиболее интенсивной обновляемостью обладают липопротеиды серого вещества, затем следуют липопротеиды белого вещества больших полушарий, низкая обновляемость у липопротеидов спинного мозга и седалищного нерва. В ряде случаев было проведено изучение интенсивности обмена рибонуклеопротеидов (РНП). Установлено, что РНП метаболически более активны в сером веществе больших полушарий. В седалищном нерве



они обновляются в среднем на 30—40% медленнее, чем РНП белого вещества больших полушарий, т. е. по метаболической активности в различных отделах ЦНС они сходны с липопротеидами. Что же касается щелочно-растворимых белков, то их обновляемость еще более низка, чем РНП. Так, щелочно-растворимые белки в сером веществе больших полушарий обновляются в 2,5—3,5, а в белом веществе и седалищном нерве — в 3,3 раза медленнее, чем РНП.

В настоящее время на основе большого экспериментального материала можно сделать вывод о том, что в головном мозгу совершенно отсутствуют инертные белки, а индивидуальные белки и белковые комплексы нейронов претерпевают непрерывную перестройку, связанную с их участием в функциональной деятельности нейронов и нейроглии. При этом наблюдаемые различия в интенсивности метаболизма отдельных фракций белков более отчетливо проявляются в тех случаях, когда они отличаются друг от друга и функционально, суммарная же скорость метаболизма белковых молекул зависит от интенсивности 2-х взаимно противоположных процессов, происходящих в нейронах, а именно от биосинтеза и распада белка. Изменения в структуре белковых молекул, происходящие при аминировании и дезаминировании белков мозга, следует рассматривать как частичное обновление отдельных фрагментов белковой молекулы.

Таким образом, существовавшее в течение длительного времени деление белков на структурные — метаболически инертные — и функциональные белки, характеризующиеся высокой метаболической активностью, в настоящее время является условным, поскольку многие структурные белки выполняют ферментативные, регуляторные и транспортные функции. В то же время в мембранах существуют сложные белково-липидные, глико- и нуклеопротеидные и другие комплексы, осуществляющие сложные внутриклеточные функции. При этом уникальная структура нейронов обуславливает некоторые особенности биосинтеза белка в нервных клетках. Этот вопрос будет рассмотрен в следующем разделе.

#### 6.6. МЕТАБОЛИЗМ БЕЛКОВ В СУБКЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУРАХ НЕЙРОНОВ

Начиная с конца 50-х годов, особое внимание уделяется изучению субклеточных структур, поскольку они характеризуются отчетливо выраженной функциональной специфичностью. В частности, изучено содержание белков в различных субклеточных структурах головного мозга. Если условно суммарные белки гомогената мозга принять за 100%, то в различных субклеточных структурах нейронов содержание белка в % будет равно: в ядерной фракции  $6,9 \pm 0,4$ ; митохондриальной (тяжелой) —



$32,0 \pm 2,3$ ; митохондриальной (легкой) —  $4,8 \pm 0,2$ ; микросомальной —  $5,9 \pm 0,2$ ; растворимой —  $19,9 \pm 0,6$  и в надосадочной жидкости —  $30,5 \pm 1,6$ .

Благодаря широкому применению дифференциального центрифугирования и метода радиоактивной индикации, в опытах *in vitro* и *in vivo* было показано, что в субклеточных структурах нейронов происходит с различной интенсивностью включение меченых аминокислот и других предшественников, участвующих в биосинтезе белка. В настоящее время достаточно убедительно доказаны неоднородность состава и различия в метаболической активности белков в отдельных субклеточных структурах нейронов. Высокий уровень радиоактивности в структурных белках мембранных образований следует рассматривать как свидетельство того, что белки нервной ткани взрослых животных как растворимые, так и структурообразующие, постоянно находятся в динамическом равновесии.

Растворимые белки субклеточных структур мозга, как правило, являются метаболически более активными по сравнению с «нерастворимыми» белками. Однако степень метаболической активности у различных нерастворимых белков неодинакова. Так, например, нерастворимые белки, входящие в состав миелина, являются наиболее стабильными соединениями, в то время как нерастворимые белки рибосом, митохондрий, ядер, синапсом характеризуются высокой метаболической активностью, причем, скорость обновления каждого индивидуального белка и белковых комплексов определяется выполняемой ими функцией. Как известно, в биосинтезе белка живых организмов особая роль принадлежит субклеточным структурам. Этот вопрос изучен достаточно полно в различных органах и тканях, особенно в печени. Однако участие субклеточных специфических структур нейронов в биосинтезе белка изучено недостаточно. Только в последние годы этот вопрос стал предметом углубленного исследования.

### Биосинтез белка в рибосомальных фракциях нейронов

В настоящее время можно считать установленным, что у взрослых животных происходит непрерывное обновление белков в нервной ткани. Основные этапы биосинтеза белка являются универсальными для тканей всех живых организмов, включая и нервную систему. Описание биосинтеза белка см. в учебниках: Ашмарин И. П. Молекулярная биология, 1977; Ленинджер. Биохимия, 1974. Схема биосинтеза белка в субклеточных структурах нейронов, исследованного многими авторами с применением меченых аминокислот представлена на рис. 23, 24. Клеточный аппарат нейронов, обеспечивающий биосинтез белка, обладает определенным резервом биосинтетической ак-



тивности, который в обычных условиях функционирования не используется. В настоящее время имеются достаточно убедительные данные о том, что для нейронов особенно характерна компартментализация аминокислот и других метаболитов. Компартментализация, по-видимому, имеет исключительно большое значение в нейронах для поддержания постоянного и притом высокого метаболизма при различных функциональных состояниях нервной системы (см. гл. 7).

На основании полученных результатов в опытах *in vivo* ряд исследователей сделали вывод о том, что биосинтез белка происходит в рибосомальных гранулах, а затем синтезированные белки транспортируются в другие субклеточные элементы нейронов. Эта точка зрения, вероятно, применима только к растворимым белкам, которые синтезируются в рибосомальных гранулах и затем направляются к местам их функционирования. Однако трудно согласовать эту точку зрения со специфическими белками, которые локализованы в определенных субклеточных структурах нейронов. Было высказано предположение, что биосинтез структурообразующих белков нейрональных мембран

происходит в местах их функционирования. Следовательно, «нерастворимые» белки (в воде, слабых растворах нейтральных солей, щелочей, кислот), как правило, синтезируются в тех субклеточных образованиях, где они участвуют в метаболических процессах. Следует также отметить, что биосинтез белка происходит с участием рибосомальных гранул. Поэтому считалось, что рибосомы являются единственным местом биосинтеза белка у эукариотов. В дальнейшем многочисленными исследованиями было убедительно показано наличие биосинтетического аппарата и в других субклеточных структурах (ядрах, легких и тяжелых митохондриях, цитоплазме, синаптосомах и др.), причем значительная часть растворимых белков синтезируется в рибосомальной фракции и в цитоплазме, а «нерастворимые» белки, преимущественно сосредоточенные в структурных образованиях, синтезируются во всех основных субклеточных структурах—ядрах, митохондриях, цитоплазме, синаптосомах, нервных окончаниях и миелине и т. д.



Рис. 23. Схема синтеза полипептидной цепи (Финеан и др., 1977).



...и других метаболитов. Ком-  
 мому, имеет исключительно большое  
 поддержания постоянного и притом  
 различных функциональных состоя-  
 гл. 7).

нных  
 vivo  
 дали  
 нтез  
 босо-  
 атем  
 анс-  
 кле-  
 онов.  
 ятно,  
 вори-  
 тези-  
 гра-  
 ются  
 ова-  
 ласо-  
 спе-  
 кото-  
 редё-  
 трук-  
 ыска-  
 био-

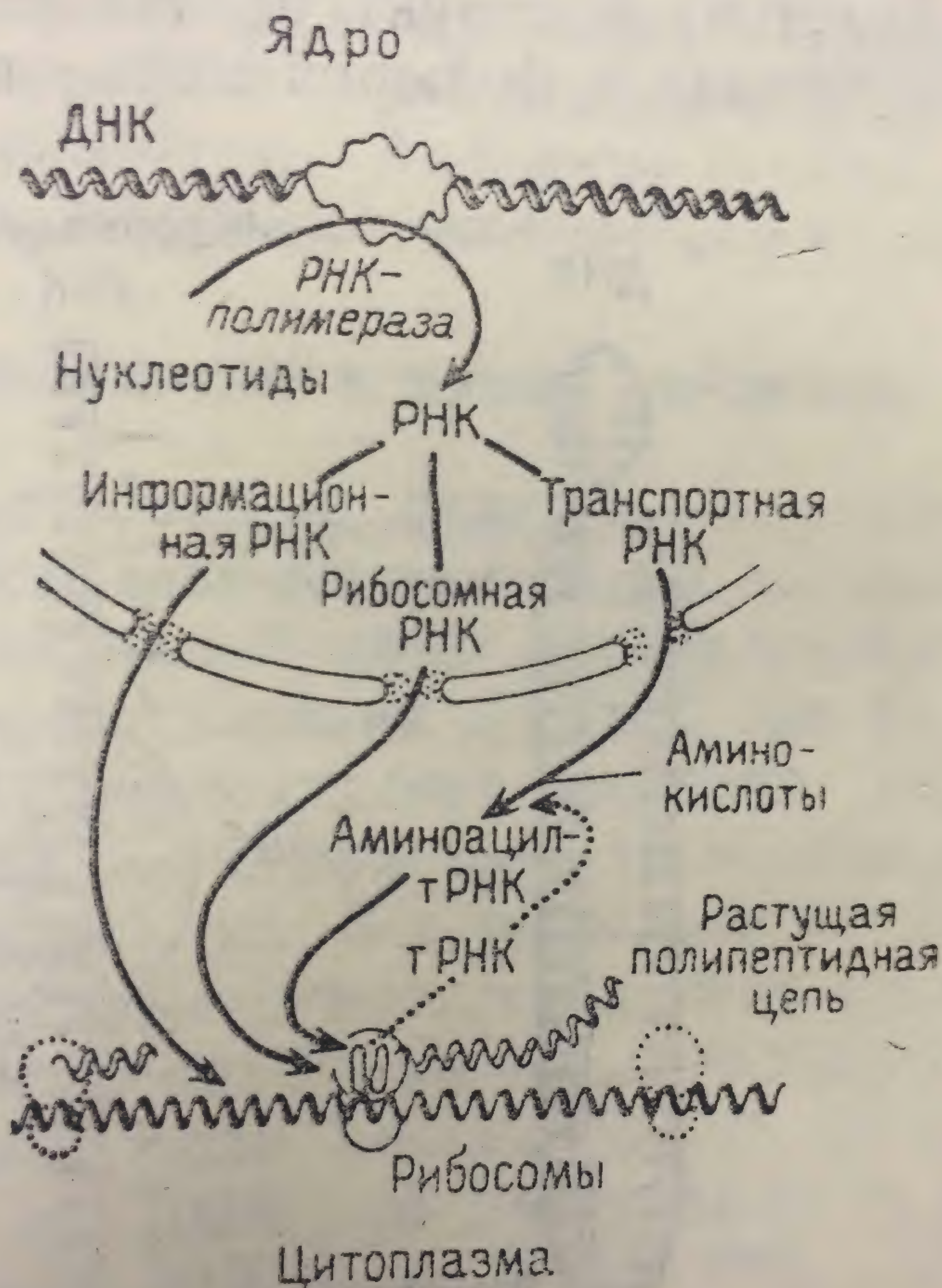


Рис. 23. Схема синтеза полипептид-  
 ной цепи (Финеан и др., 1977).

щих белков нейрональных мембран  
 ункционирования. Следовательно, «не-



На основании многочисленных исследований напрашивается вывод о том, что интенсивность обмена индивидуальных белков отдельных фракций и белковых комплексов, входящих в различные структурные образования, определяется прежде всего их участием в тех или иных функциях нейрона. Интенсивность метаболизма одних и тех же белков, локализованных в различных субклеточных структурах, отличается в меньшей степени, чем обмен различных белков, локализованных в одной субклеточной структуре. Например, интенсивность обмена фосфопротеида в большей мере отличается от интенсивности мета-

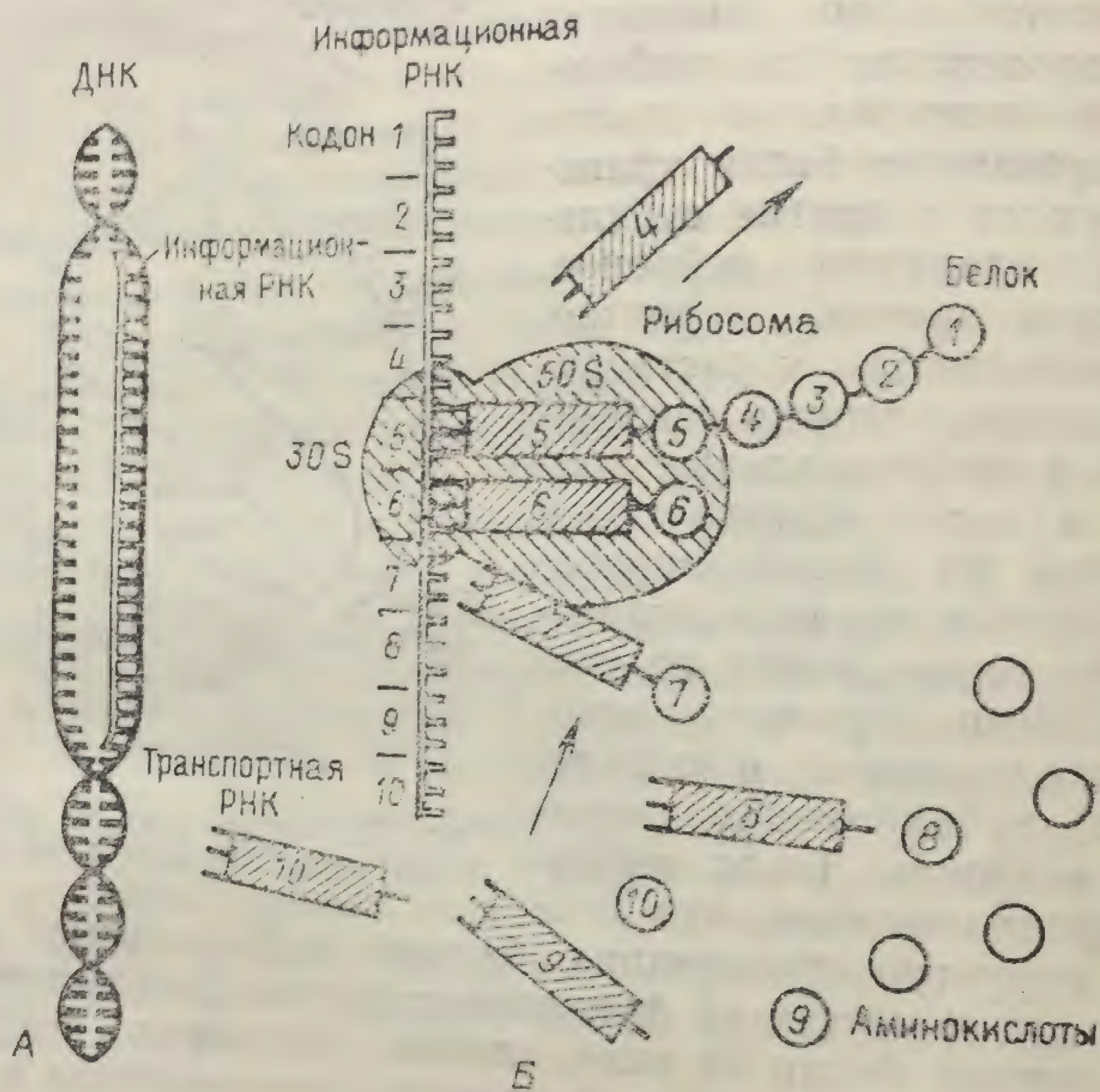


Рис. 24. Схема синтеза белка в рибосомах (Финеан и др., 1977).

болизма протеолипидов, чем интенсивность метаболизма фосфопротеидов, локализованных в различных субклеточных структурах. Это также относится к рибонуклеопротеидам, которые обновляются более интенсивно, чем другие белки. В сером веществе больших полушарий интенсивность обмена их выше в 3,4—4,0 раза, в белом веществе — в 1,5—2,5 раза и в периферических нервах — в 1,5 раза по сравнению с другими белками в тех же отделах нервной системы, поскольку фосфопротеиды, рибонуклеопротеиды, протеолипиды и другие белки выполняют специфические, им присущие функции независимо от того, в каких субклеточных структурах они локализованы. При этом



ные структурные обра- все-  
участием в тех или иных функциях нейрона. Интенсив-  
метаболизма одних и тех же белков, локализованных в  
ных субклеточных структурах, отличается в меньшей сте-  
чем обмен различных белков, локализованных в одной  
точной структуре. Например, интенсивность обмена фос-  
теида в большей мере отличается от интенсивности мета-

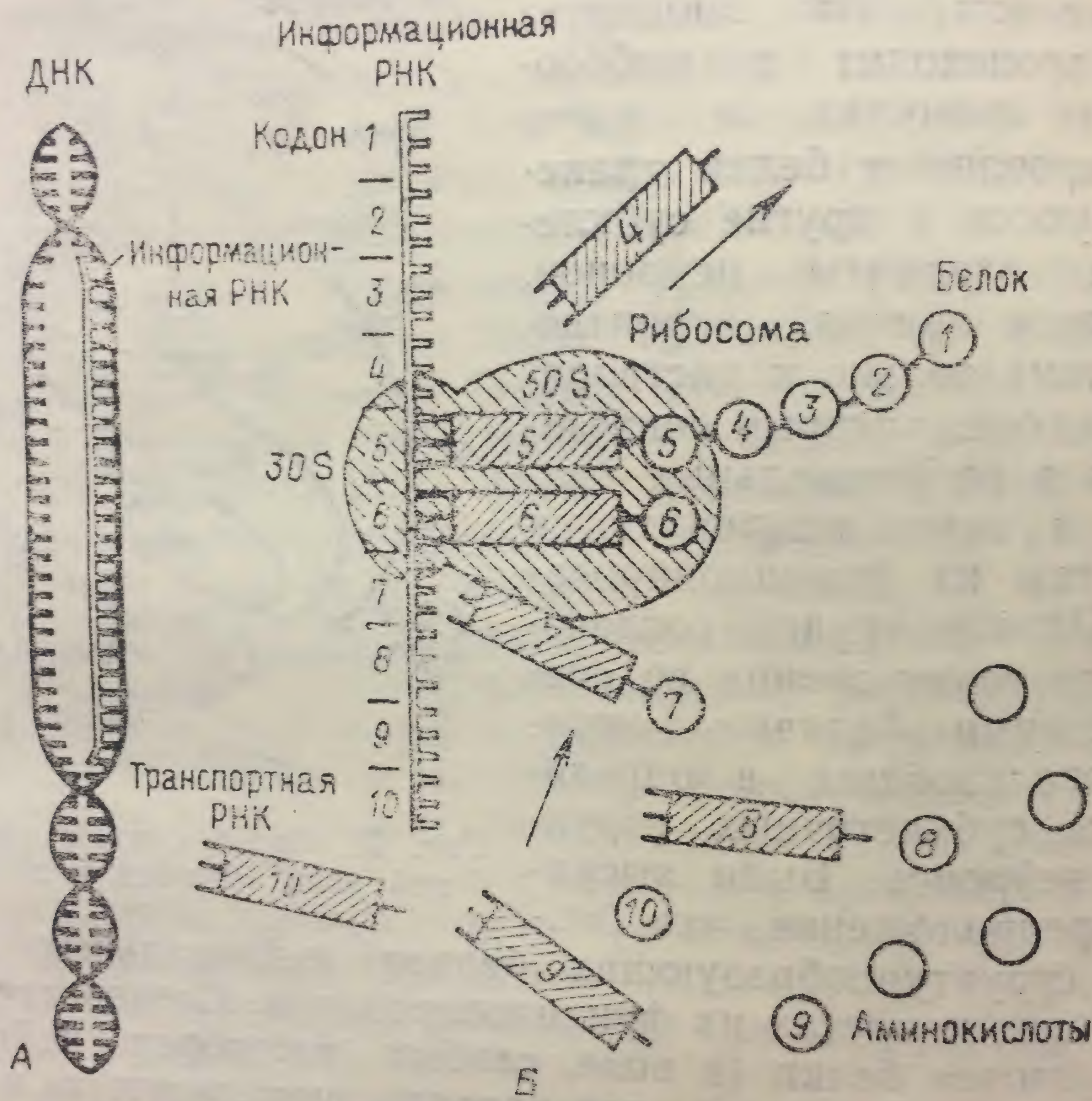


Рис. 24. Схема синтеза белка в рибосомах (Финеан и др., 1977).

изма протеолипидов, чем интенсивность метаболизма фос-  
ротендов, локализованных в различных субклеточных струк-  
ах. Это также относится к рибонуклеопротеидам, которые  
овляются более интенсивно, чем другие белки.



ные структурные обра- все-  
участием в тех или иных функциях нейрона. Интенсив-  
метаболизма одних и тех же белков, локализованных в  
ных субклеточных структурах, отличается в меньшей сте-  
чем обмен различных белков, локализованных в одной  
точной структуре. Например, интенсивность обмена фос-  
теида в большей мере отличается от интенсивности мета-

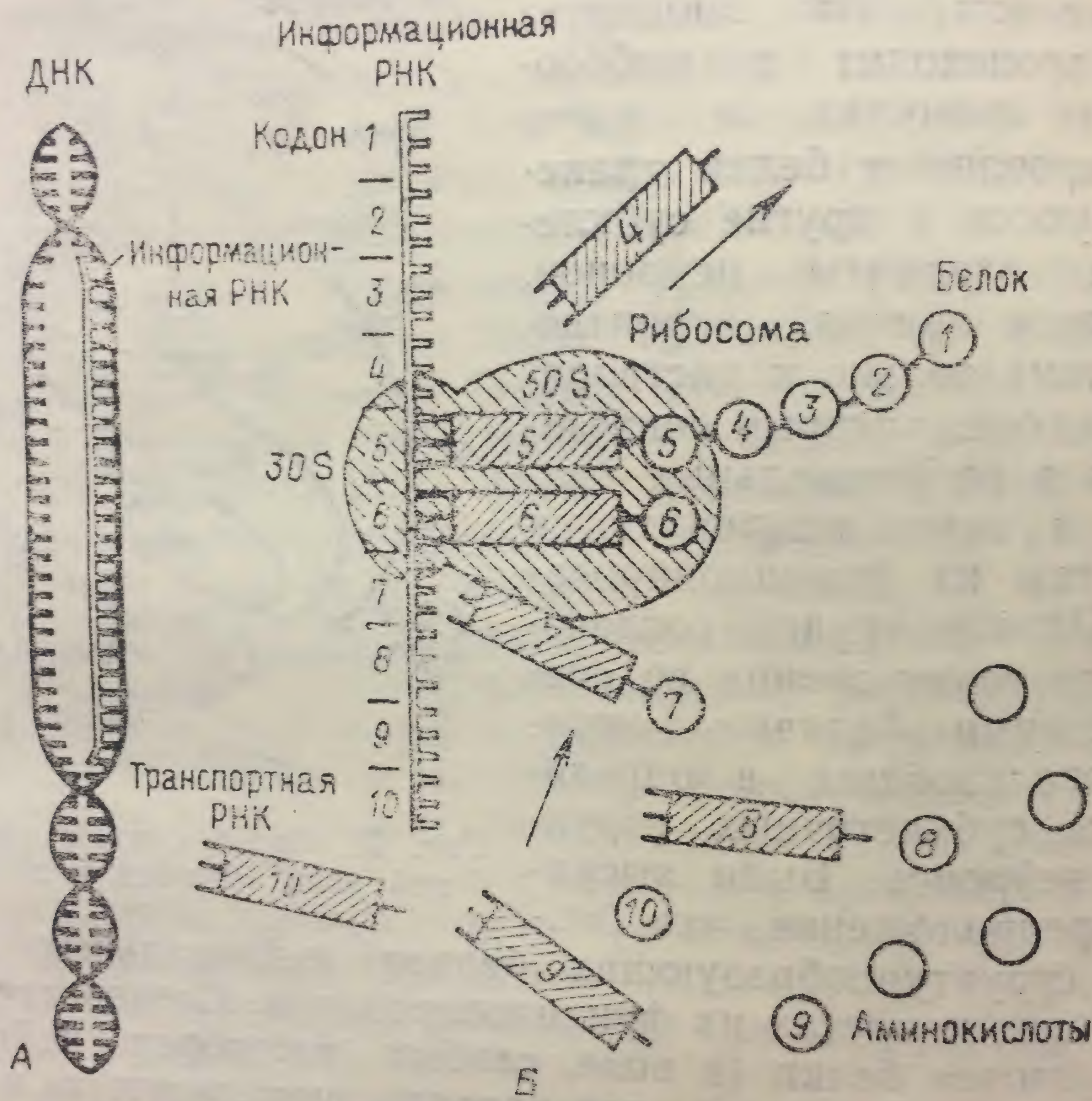


Рис. 24. Схема синтеза белка в рибосомах (Финеан и др., 1977).

изма протеолипидов, чем интенсивность метаболизма фос-  
ротендов, локализованных в различных субклеточных струк-  
ах. Это также относится к рибонуклеопротеидам, которые  
овляются более интенсивно, чем другие белки.



отдельные фрагменты мембранных структур нейронов отличаются друг от друга не только составом белков, входящих в те или иные фрагменты, но и метаболической активностью. Следовательно, различия в интенсивности обмена отдельных белков субклеточных структур — рибосом, митохондрий, ядер, цитоплазмы, синапсом, нервных окончаний, миелина и других — определяются как составом белка, так и их функциональной ролью. По удельной активности суммарные белки в субклеточных структурах нейронов располагаются в следующем порядке: рибосомальные гранулы > растворимые цитоплазматические > > легкие митохондриальные > гомогенат > ядерные > тяжелые митохондриальные > синапсомы > нервные окончания > миелин.

### Метаболизм белков в цитоплазме и в ядрах нейронов

Наиболее полно изучены растворимые белки цитоплазмы. С помощью диализа против дистиллированной воды цитоплазматические белки делятся на нейроальбумины и нейроглобулины, а методом высаливания при насыщении до 20%, от 20 до 50% и от 50 до 100% раствора сернокислого аммония цитоплазматические белки делятся на 3 подфракции. Наиболее высокой метаболической активностью из 3-х выделенных подфракций обладают 1-я и 2-я, которые относятся к нейроглобулинам, напротив, подфракция нейроальбуминов характеризуется более низкой обновляемостью. Если интенсивность обмена 1-й подфракции белка принять за 100%, то интенсивность обмена 2-й подфракции будет равна 89%, а 3-й — 70%. При использовании электрофоретического разделения на агар-агаровом геле растворимые белки цитоплазмы делятся на 16 и более зон (подфракций), причем только у одной из выделенных подфракций электроподвижность близка к электроподвижности альбумина сыворотки крови; 1-я и 2-я подфракции движутся быстрее альбумина, поэтому их можно по электроподвижности отнести к преальбуминам, а остальные подфракции — к нейроглобулинам. Растворимые белки цитоплазмы не только электрофоретически, но и другими методами делятся также на 12—16 фракций.

Изучение интенсивности обмена растворимых белков цитоплазмы проводилось с применением меченых аминокислот (14C-1-лизина, 14C-1-лейцина, 35S-метионина и др.). Фракция нейроальбуминов обменивается менее интенсивно (примерно на 25%) по сравнению с суммарной фракцией этих белков, то есть что же касается индивидуальных фракций этих белков, то обновляемость их довольно трудно определить, так как нейроглобулины различными методами делятся на неодинаковое число фракций. Очевидно, этим можно объяснить противоречивые результаты, полученные рядом авторов, а также еще тем, что исследования проводились при различных условиях и состоя-



ниях животных. Однако общий вывод можно сделать следующий: биосинтез растворимых белков в цитоплазме идет интенсивно.

В последние годы появились работы, в которых исследователям удалось убедительно показать, что ядра являются не только поставщиками матриц для синтеза белка, т. е. хранилищем основного фонда наследственной информации (ДНК), но в них обнаружено наличие рРНК, тРНК и мРНК, а также ферментов, активирующих аминокислоты и образование соответствующих нуклеотидов для синтеза полимерных ДНК и РНК. Кроме того, в нуклеоплазме имеются свободные аминокислоты, нуклеотиды, АТФ, ГТФ, глюкоза и другие метаболиты. Следовательно, в ядре нейрона может происходить биосинтез белка. При этом было выявлено различие в механизме биосинтеза белка в нуклеоплазме по сравнению с цитоплазмой. Так, например, в ядре интенсивность биосинтеза белка зависит от присутствия ионов  $Mg^{2+}$ , в то время как для цитоплазмы необходимы ионы  $K^{+}$ . При изучении интенсивности включения меченых аминокислот  $^{14}C$ -1-лизина,  $^{14}C$ -1-лейцина и  $^{14}C$ -2-глицина — было показано, что белки ядерной фракции (рибонуклеопротеиды и дезоксирибонуклеопротеиды) обновляются в 2—3 раза быстрее, чем ядерные гистоны и остаточный белок ядра, нерастворимый в дезоксихолате.

Скорость обновления ядерных белков можно представить в следующей последовательности: растворимые белки > хроматиновые белки (РНП и ДНП) > основные белки (гистоны и др.). Причем, белки, выделенные из ядер нейронов, характеризуются более высокой обновляемостью, чем аналогичные белки, выделенные из ядер нейроглии. Исключение составляют кислые белки хроматина нейроглии, которые обновляются примерно с такой же активностью, как и аналогичные белки ядерной фракции нейронов. Исходя из данных, полученных с использованием меченых аминокислот, можно сделать заключение о том, что наиболее высокой метаболической активностью обладают растворимые белки и рибонуклеопротеиды, содержащиеся в нуклеоплазме. Аналогичная картина метаболической активности наблюдается в белках, содержащихся в ядрах других органов и тканей животных.

Гистонам мозга посвящен ряд исследований. В нейронах скорость обновления гистонов мозга в 3 раза выше, чем в печени. Что же касается структурных белков ядерной оболочки, то они несколько медленнее обновляются, чем другие белки ядра. Как известно, кроме ядра имеется одно или несколько ядрышек. Проведенные биохимические и цитохимические исследования позволяют предположить, что ядрышки осуществляют взаимосвязь между ядром и цитоплазмой. Это, вероятно, относится к биосинтезу белка, так как высокое содержание ДНК и белка обнаружено именно в ядрышке. Использование меченых аминокислот



кислот показано, что наиболее высокая метка наблюдалась в ядрышке. Все это свидетельствует о биосинтезе белка ядрышек, а также о том, что в ядре имеется самостоятельный биохимический аппарат биосинтеза белка.

### Метаболизм белков в митохондриях нейронов

В митохондриях, так же как и в ядрах существует самостоятельный биохимический аппарат, участвующий в биосинтезе белков. Включение аминокислот в митохондрии мозга протекает примерно с такой же интенсивностью, как и в митохондриях печени. При этом в митохондриях мозга, как и в митохондриальных гранулах содержатся все необходимые компоненты для биосинтеза белка: ДНК, рРНК, тРНК и мРНК, ферменты, активирующие аминокислоты (аминоацил-РНК-синтетазы), свободные аминокислоты, АТФ, ГДФ, глюкоза и другие метаболиты (см. рис. 23). В митохондриях нейрона происходит биосинтез белка, начиная с активирования аминокислот и кончая образованием полипептидных связей, т. е. также, как в митохондриальных гранулах, микросомах и цитоплазме нейронов. Однако биосинтез белка в митохондриях характеризуется некоторыми особенностями по сравнению с другими субклеточными структурами нейрона.

Наиболее вероятно, что биосинтетический митохондриальный аппарат, участвующий в биосинтезе белка, локализован на внутренней поверхности мембран митохондрий, причем синтезируются преимущественно структурные нерастворимые белки и белки-ферменты, входящие в определенные фрагменты мембранных структур митохондрий, где одновременно происходит и сборка надмолекулярных образований. Следовательно, белки, синтезируемые в митохондриях, там же, как правило, функционируют. Синтезируемые структурные белки и ферменты прочно связаны с мембранами, напротив, белки, находящиеся на наружных стенках, синтезируются цитоплазматическим аппаратом и фиксируются на наружной поверхности митохондрий нейронов. В опытах *in vitro* показано, что более высокой обильностью обладают белки внутренних митохондриальных мембран. Белки митохондрий мозга являются гетерогенными, поскольку они участвуют в структурообразовании, в процессе проницаемости, энергетическом обмене и др.

С помощью дифференциального центрифугирования из нейронов были выделены легкие и тяжелые митохондрии. Содержание белков в легких митохондриях оказалось равным около 4,8% от суммы всех белков нейронов, а в тяжелых — примерно 32,0%. Белки тяжелых митохондрий в свою очередь делятся на несколько фракций. Исследования, касающиеся метаболической активности белков легких и тяжелых митохондрий, по-



зволили установить, что белки легких митохондрий обмениваются в среднем в 2,5 раза быстрее, чем белки тяжелых митохондрий, причем метаболическая активность белков легких митохондрий по своей интенсивности обмена приближается к аналогичным белкам рибосомальной фракции, в то время как белки тяжелых митохондрий обновляются примерно в 2—3 раза медленнее белков рибосомальной фракции. Нерастворимые белки легких митохондрий метаболически также более активны, чем аналогичные белки тяжелых митохондрий. Это можно объяснить тем, что легкие митохондрии представляют собой такие образования, которые находятся в состоянии созревания, поэтому и белки более интенсивно обновляются. Не исключена также возможность, что в легких митохондриях имеются примеси быстро обменивающихся белков рибосом и мембранных структур эндоплазматического ретикулума.

В настоящее время получен экспериментальный материал, свидетельствующий о некоторых особенностях биосинтеза белка в митохондриях мозга в отличие от митохондрий других органов. Так, например, ацетооксициклогексимид подавляет синтез белка в митохондриях и синапсомах мозга, но не влияет на биосинтез белка в митохондриях печени. Что же касается растворимых белков мозга, включая ферменты, то они, как уже указывалось, синтезируются цитоплазматическими полирибосомальными гранулами, а затем транспортируются в митохондрии и закрепляются на наружной поверхности мембран. Имеются также данные о том, что в митохондриях головного мозга происходит биосинтез протеолипидов, которые являются специфическими белково-липидными комплексами, входящими в состав миелина, и в этом несомненная особенность метаболизма белков митохондрий нервной ткани. Обнаруженные различия в опытах *in vivo* в головном мозгу по сравнению с другими органами, по-видимому, обусловлены не особенностями аппарата биосинтеза белка, а спецификой гемато-энцефалического барьера и активностью ферментных систем.

### Метаболизм белков в синаптических образованиях

Основной механизм биосинтеза белка в живых организмах является в значительной мере универсальным. Это относится к биосинтезу белка в субклеточных структурах любой клетки — рибосомах, ядре, митохондриях и цитоплазме, так как субклеточные образования выполняют аналогичную роль и в других органах и тканях животных и растительных организмов. Однако в нейронах имеются специфические структуры — аксон, дендриты, синаптические образования, чувствительные и двигательные нервные окончания, миелиновые оболочки, характеризующиеся существенными морфологическими и функциональными отличиями по сравнению с другими субклеточными струк-



турами нейронов, что отражается на их составе и метаболической активности (рис. 25, 26).

Среди перечисленных специфических структур нейронов особое место занимают синаптические образования. С их участием происходит взаимосвязь и взаимообмен между нейронами, так как непрерывно возникают контакты (связи) между аксонами, дендритами и телом одного нейрона с другими, причем не только локально, но, что особенно важно, синаптические связи

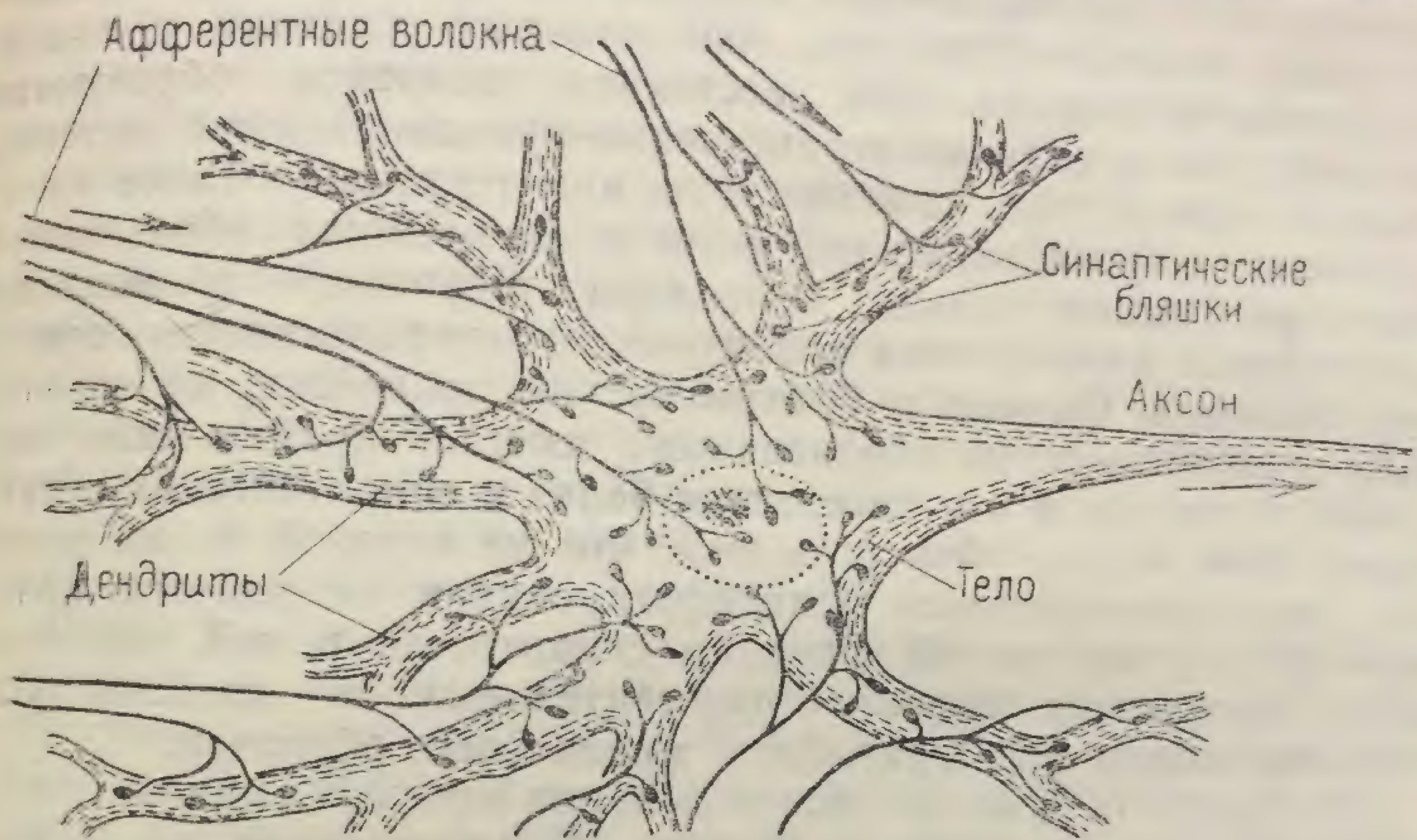


Рис. 25. Схема тела нейрона (Экклс, 1966).



Рис. 26. Схема синаптических контактов (Экклс, 1966).

образуются также по функциональному признаку. Количество синапсов в нейронах колеблется в значительных пределах, оно определяется функциональным состоянием отдельных нейронов и местом их локализации. По данным электронной микроско-



бое место взаимодействия образований. С их участием происходит взаимосвязь и взаимообмен между нейронами, так как непрерывно возникают контакты (связи) между аксонами, дендритами и телом одного нейрона с другими, причем не только локально, но, что особенно важно, синаптические связи

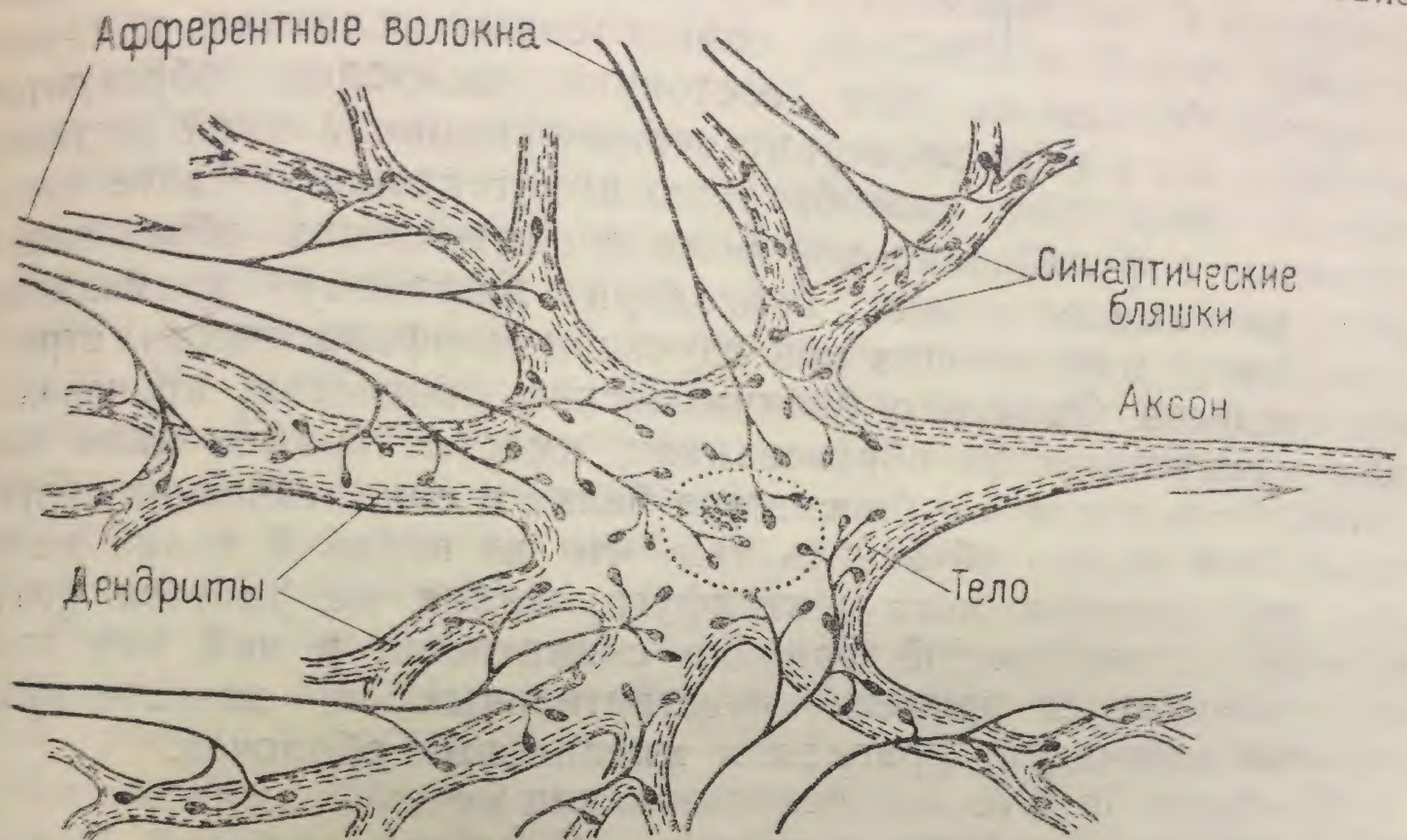


Рис. 25. Схема тела нейрона (Экклс, 1966).



Рис. 26. Схема синаптических контактов (Экклс, 1966).  
 образуются также по функциональному признаку. Количество синапсов в нейронах колеблется в значительных пределах, оно отдельных нейронов



нии, число синапсов в нейронах может быть от 30 до 1000. Известно, что при повышенной деятельности тех или иных отделов ЦНС, а также при возбужденном состоянии нейронов, количество синапсов в них отчетливо возрастает, при торможении, напротив, число синапсов и связей в нейронах резко снижается.

Синаптические образования играют важную роль не только в проведении нервных импульсов, но и в формировании кратковременной и долговременной памяти, так как с участием синаптических связей в ЦНС при определенных условиях, т. е. при синхронно-функциональном состоянии нейронов образуются ансамбли их в виде пространственно-функциональной системы, которая приобретает своеобразную архитектуру. Такое представление о функциональной роли синаптических образований стала возможным только благодаря широкому применению электронной микроскопии при изучении морфологических структур синапсов. Однако о биохимических процессах, происходящих в синаптических образованиях, имеется крайне мало сведений, в том числе и о биосинтезе белка в синаптических структурах. Это можно объяснить тем, что из нервной ткани методом дифференциального центрифугирования не удастся получить достаточно чистой фракции синаптосом, в ней, как правило, содержатся примеси чувствительных и двигательных нервных окончаний, фрагменты миелиновых оболочек.

В опытах *in vivo* при использовании меченых аминокислот —  $^{14}\text{C}$ -1-лизина,  $^3\text{H}$ -лейцина и других — было показано, что белки, выделенные из синаптических образований и миелина, по своей метаболической активности существенно различны. Например, Уиттейкер и его сотрудники установили, что удельная активность белков синаптических образований, растворимых в дезоксихолате, примерно в 2 раза выше, чем УА тех же белков, выделенных из миелина. Нерастворимые белки синапсов так же характеризуются более высокой метаболической активностью по сравнению с нерастворимыми белками миелина, который является наиболее стабильным в отличие от других субклеточных структур. Удельная активность протеолипидов, извлеченных из синаптических структур, наоборот, оказалась ниже, чем у протеолипидов миелина — специфических белков миелина. По-видимому, в этом и состоит причина более высокой метаболической активности протеолипидов миелина, чем аналогичных белков в синапсах. Однако для большинства белков синаптических образований характерна более высокая метаболическая активность по сравнению с белками периферических нервов, миелиновых оболочек, чувствительных и двигательных нервных окончаний и т. д.

Одним из доказательств того, что биосинтез белка в синаптических структурах идет с большой интенсивностью, может также служить тот факт, что на долю синапсов приходится зна-



чительное количество РНК и белка. Если условно принять все количество РНК в нейроне за 100%, то в синаптических структурах содержится РНК 12—16%, белка—20%, ДНК только 0,4%. Количество РНК в синаптических образованиях распределяется следующим образом: синаптические мембраны > синаптические везикулы. Вопрос о биосинтезе РНК в синаптических структурах окончательно не решен. Однако установлено, что в цитоплазме содержатся свободные нуклеотиды, а при введении  $^{14}\text{C}$ -оротовой кислоты обнаруживается метка в молекуле РНК, локализованной в синапсах.

В опытах с введением меченых аминокислот автографическим методом было показано, что в синаптических структурах головного мозга происходит интенсивный митохондриальный и немитохондриальный биосинтез белка. Установлено также наличие в синаптической цитоплазме значительного фонда свободных аминокислот за счет поступления их из межклеточной среды. Это пополнение осуществляется через пресинаптические мембраны. Как известно, важным источником образования свободных аминокислот может быть глюкоза, которая непрерывно поступает в цитоплазму синапсов, что было подтверждено в опытах с использованием меченой  $^{14}\text{C}$ -1-6-глюкозы.

Выше указывалось, что в цитоплазме синапсов имеются митохондрии, которые, как известно, ответственны за интенсивный уровень энергетического обмена и образование макроэргов (АТФ, АДФ, АМФ и т. д.). Только при непрерывном энергетическом обеспечении в синаптических структурах может осуществляться интенсивный биосинтез белка, полипептидов, нейромедиаторов и других метаболитов, а также участие синапсов в проведении нервных импульсов. Кроме того, очень важным моментом является непрерывное образование новых синапсов, так как интенсивное функционирование нейронов определяется наличием синапсов в том или ином нейроне.

Синаптические образования представляют собой морфологически сложную структуру, поэтому ряд белков нейрона может синтезироваться непосредственно в теле нейрона, а затем мигрировать по аксону и дендритам. Существует также и биохимический механизм биосинтеза белка в ядрах и синапсосамах. В этих же субклеточных элементах обнаружены и соответствующие ферментативные системы, активирующие аминокислоты.

В заключение следует особо подчеркнуть, что роль синаптических образований в деятельности нервной системы исключительно велика, поэтому для обеспечения нормального функционирования синаптических структур необходим высокий и постоянный энергетический обмен. Только в этом случае возможен биосинтез белка, полипептидов, нейромедиаторов и других метаболитов, участвующих в обеспечении нормальной деятельности нервной системы.



## Роль аксоплазмы и аксонального тока в деятельности нейронов

Аксоплазму и аксональный ток в нейроне можно рассматривать как специфическую морфофизиологическую систему, с помощью которой осуществляется непрерывный как прямой, так

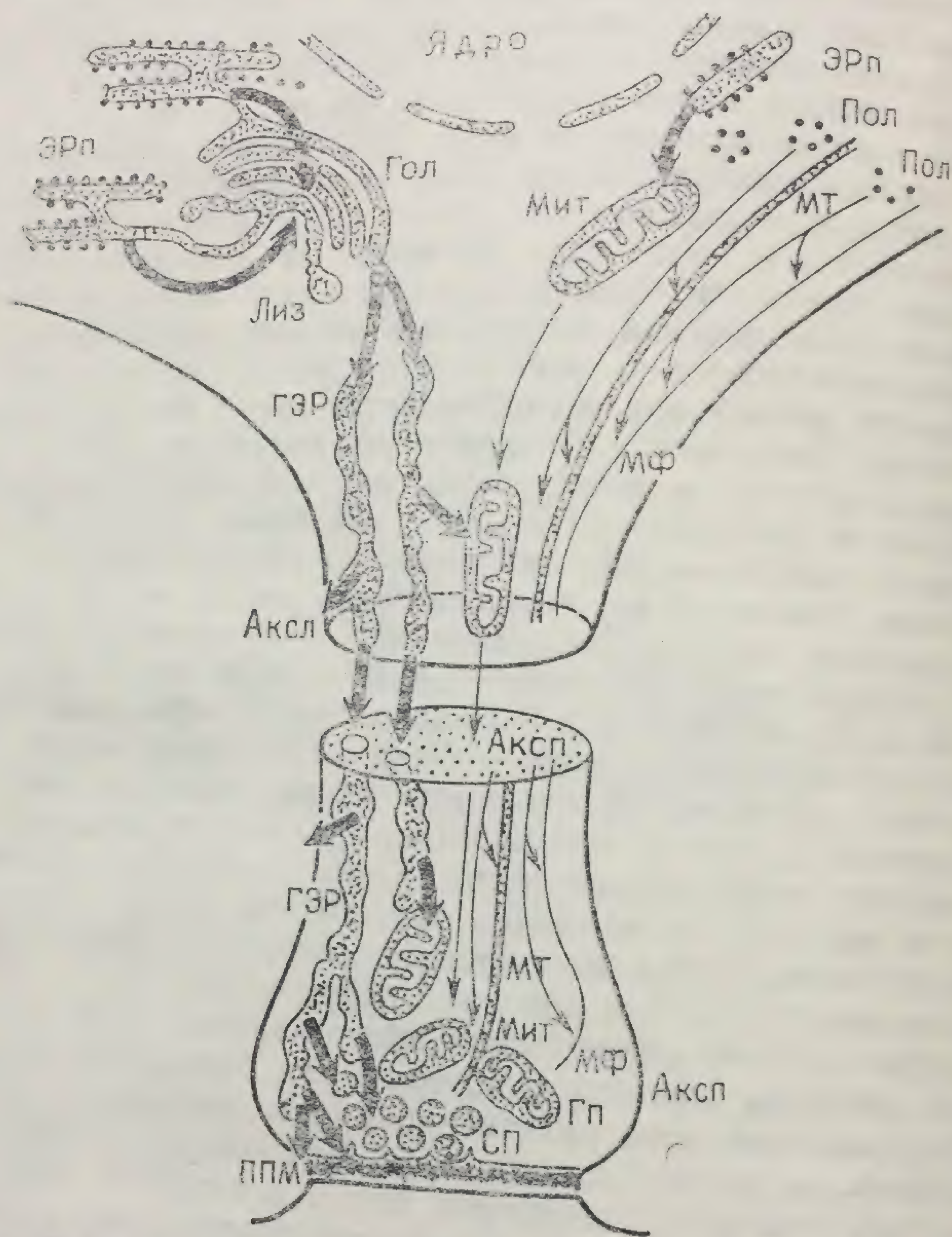


Рис. 27. Схема аксонального транспорта (Droz, 1975). Толстыми стрелками обозначен быстрый аксоток, тонкими — медленный

Гол — аппарат Гольджи, ЭРп — эргастоплазма, Пол — политрубочки, Мит — митохондрии, МТ — микрофиламенты, Лиз — лизосомы, ГЭР — гладкий эндоплазматический ретикулум, Аксл — аксолемма, Аксп — аксоплазма, Гп — гидрофобная мембрана, СП — синаптические пузырьки.

и ретроградный перенос различных пластических и энергетических веществ от тела нейрона до синаптических окончаний и обратно. Кроме того, применение меченых предшественников



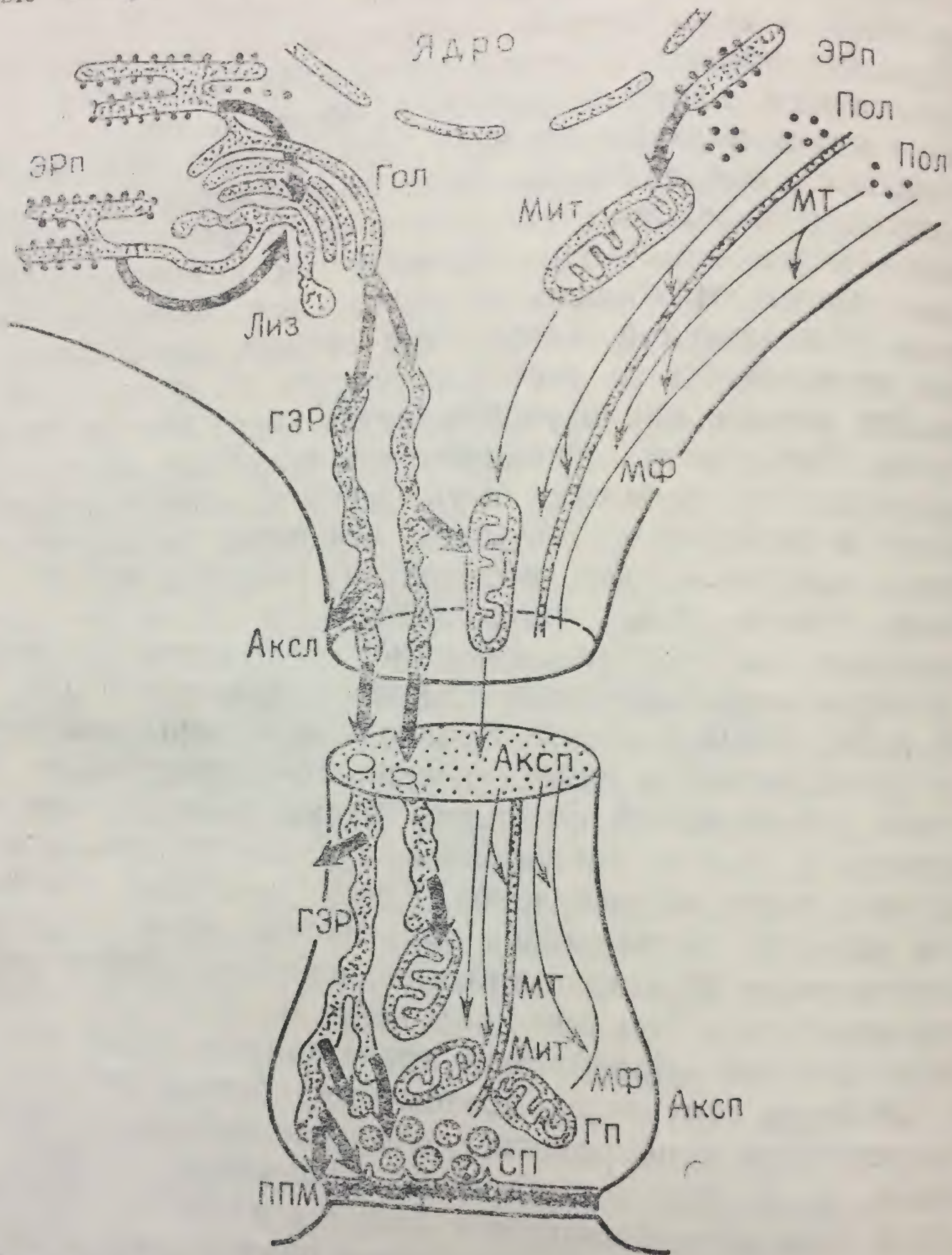


Рис. 27. Схема аксонального транспорта (Droz, 1975). Толстыми стрелками обозначен быстрый аксоток, тонкими — медленный

Гол — аппарат Гольджи, ЭРп — эргастоплазма, Пол — полирибосомы, Мит — митохондрии, МТ — микротрубочки, МФ — микрофиламенты, Лиз — лизосомы, ГЭР — гладкий эндоплазматический ретикулум, Аксл — аксолемма, Аксп — аксоплазма, Гп — гидрофобная, СП — синаптические пузырьки.

и ретроградный перенос различных пластических и энергетических веществ от тела нейрона к аксону и обратно. Крис



( $^{14}\text{C}$ -лейцина,  $^3\text{H}$ -лизина,  $^3\text{H}$ -фукозы и др.) как в норме, так и при различных функциональных состояниях, использование ингибиторов энергетического обмена (оуабайна, цианидов и др.), а также ингибиторов биосинтеза белка (ацетоксициклогексимида, пурамицина, колхицина и др.) позволило доказать, что в аксоплазме происходит биосинтез необходимых метаболитов при участии соответствующих предшественников и ферментов аксоплазмы.

Наличие движения аксоплазмы от перикариона по аксону и дендритам до синаптических образований, названного аксональным током (аксотоксом), было обнаружено 30 лет назад. В настоящее время с помощью электронно-микроскопических исследований установлено, что в продвижении разнообразных метаболитов и отдельных оргanelл, т. е. в обеспечении аксонального тока, участвуют два типа морфологических структур: 1) микротрубочки, (нейротубули), которые имеют цилиндрическую форму диаметром около  $230 \text{ \AA}$ , в их состав входит сократительный белок — нейротубулин; 2) нейрофиламенты, цилиндрические нити диаметром  $100 \text{ \AA}$ , представляющие собой белки глобулярной структуры, обладающие механосократительными свойствами (нейростенин).

Обе структуры участвуют в движении веществ по аксону и дендритам. Кроме того, в нитях аксоплазмы транспортную функцию выполняет система АТФ — АТФаза  $\rightleftharpoons$  сократительный белок, регулируемая ионами  $\text{Ca}^{2+}$  и др. (рис. 27, 28).

Аксональный ток делят на два типа. Медленный аксоток (МА) движется со скоростью  $0,5\text{--}1,2 \text{ мм/сут.}$ , быстрый аксоток (БА) — со скоростью  $40\text{--}500 \text{ мм/сут.}$  В медленном аксотоке движутся в основном растворимые белки, входящие в состав цитоплазмы синапсов, синаптических митохондрий, нейротубулей и нейрофиламентов. В быстром аксотоке движутся структурные белки, входящие в состав пресинаптических мембран, синаптических мембран, синаптических пузырьков (везикул)



Рис. 28. Гладкий эндоплазматический ретикулум (Droz, 1975).

САП — субаксолемная пластинка, ПС — первичная сеть, ВС — вторичная сеть, СП — синаптические пузырьки.



етического обмена (оуабайна, цианидов и др.),  
 торов биосинтеза белка (ацетооксициклогекси-  
 на, колхицина и др.) позволило доказать, что в  
 исходит биосинтез необходимых метаболитов  
 ответствующих предшественников и ферментов

жения аксо-  
 икариона по  
 ам до синап-  
 аний, назван-  
 ток (ак-  
 обнаружено  
 настоящее  
 электронно-  
 исследова-  
 что в про-  
 разных ме-  
 ьных орга-  
 чении аксо-  
 ствуют два  
 ьких струк-  
 ьчки, (ней-  
 имеют ци-  
 у диамет-  
 их состав  
 ьный бе-  
 ; 2) ней-  
 дрические  
 0 Å, пред-  
 елки гло-  
 , облада-  
 тельными  
 остенин).  
 ствуют в

аксону и дендритам. Кроме того, в нитях  
 тную функцию выполняет система АТФ—

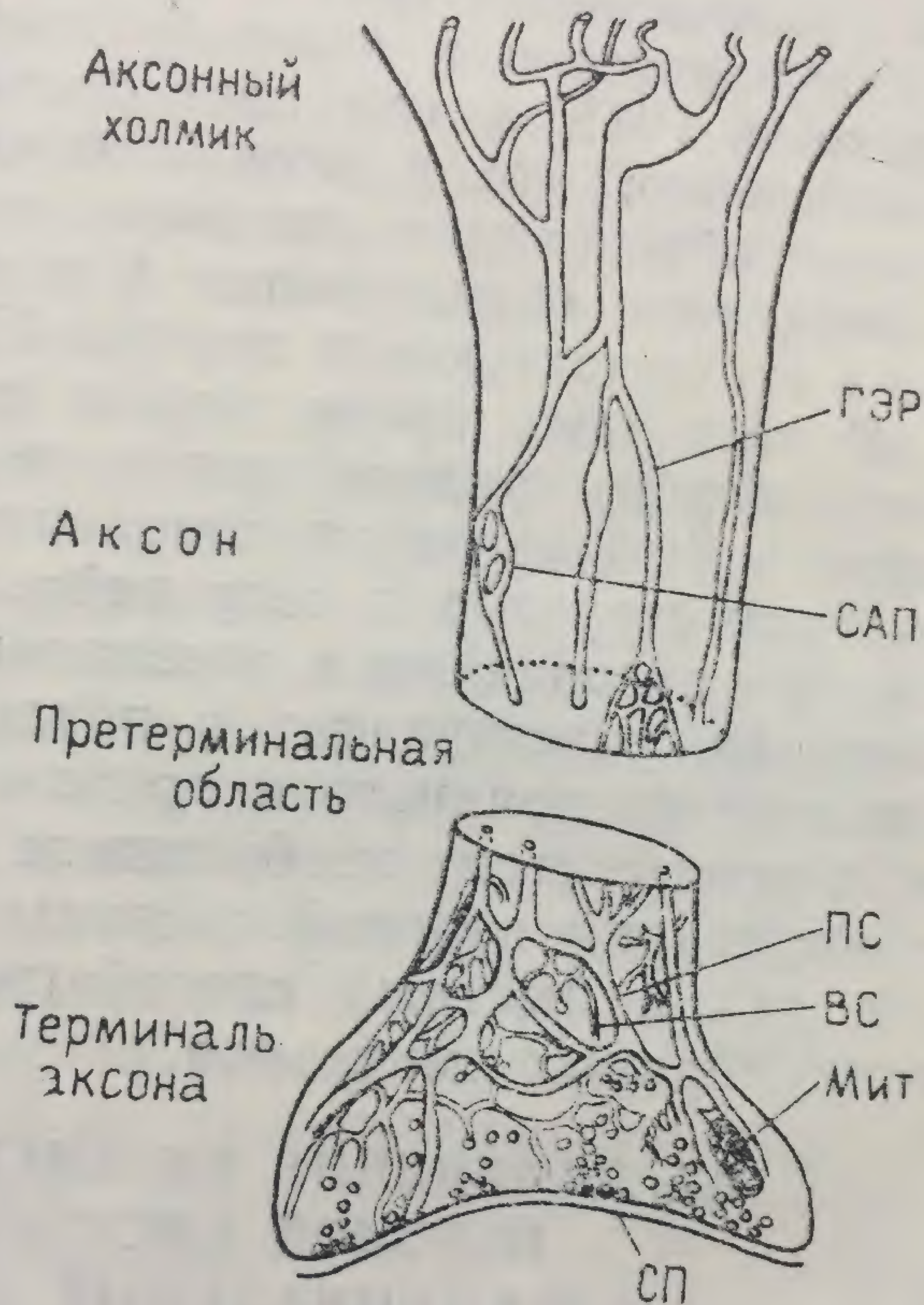


Рис. 28. Гладкий эндоплазматический ретикулум (Droz, 1975).

САП — субаксолеммная пластинка, ПС — первичная сеть, ВС — вторичная сеть, СП — синаптические пузырьки.



и синаптических митохондрий, и, возможно, других органелл нейронов (митохондрий, лизосом). Однако механизм, регулирующий процесс движения медленного и быстрого аксотока, изучен крайне слабо. В то же время значение аксоплазмы аксонального тока для биосинтеза белка, нейропептидов, нейромедиаторов, а также и других метаболических процессов велико. Поскольку в синаптических структурах непрерывно происходят интенсивные биохимические процессы, то с помощью аксоплазмы и аксонального тока, а также с участием ферментов и белков, нейромедиаторов и разнообразных метаболитов (аминокислот, глюкозы, РНК и др.) идет постоянное образование синапсов. Несомненно, что с помощью аксонального тока также ускоряется образование синапсов, количество которых, как уже указывалось, определяется функциональным состоянием нейронов в соответствующих отделах ЦНС.

В настоящее время можно считать доказанным, что имеет место и ретроградное движение аксотока от синапсов до тела нейрона, что является дополнительной информацией от синаптических структур к телу нейрона. Все это свидетельствует о том, что аксоплазма и аксональный ток являются одним из механизмов, участвующих в поддержании в синаптических образованиях постоянного и притом высокого метаболического уровня; в этом состоит необходимое условие для нормального функционирования нервной системы. Аксональный ток как медленный, так и быстрый способствует более эффективному проведению нервных импульсов.

#### 6.7. ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОБМЕНА БЕЛКОВ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

В течение длительного времени считали, что нервная ткань является инертной, так как при различных воздействиях не удавалось обнаружить заметных количественных изменений изучаемых метаболитов, включая и белки, в то время как аналогичные воздействия в печени, в крови и других органах вызывали отчетливые изменения в содержании и интенсивности обмена белков и других метаболитов. В дальнейшем благодаря применению метода радиоактивной индикации коренным образом изменились представления об интенсивности метаболизма белков в нервной ткани. Оказалось, что головной мозг и другие отделы ЦНС характеризуются высокой метаболической активностью. Так, если вводить меченые аминокислоты интрацеребрально, т. е. минуя гемато-энцефалический барьер, то в головном мозгу они внедряются в белки и другие метаболиты значительно интенсивнее, чем в печени и других органах. Подобные исследования проводились в лабораториях Палладина, Велша, Рихтера, Лайта, в нашей лаборатории и других. Например, при введении меченых  $^{14}\text{C}$ -аминокислот, особенно ала-



нина, глицина, глутамата, быстро, в течение нескольких минут, обнаруживается метка  $^{14}\text{C}$  в суммарной фракции белков головного мозга.

В настоящее время многочисленные исследования по изучению интенсивности метаболизма белков нервной ткани при разнообразных функциональных состояниях организма человека и животных проводятся в различных направлениях; 1) исследуется интенсивность обмена белков в нервной системе в онто- и филогенезе; 2) изучается особенность метаболизма простых и сложных белков головного мозга, ЦНС и ПНС при различных функциональных состояниях организма, вызываемых физическими и особенно разнообразными химическими воздействиями. Помимо экзогенных факторов, влияющих на функциональное состояние организма, широко используются эндогенные факторы—гормоны, нейромедиаторы и др.

Современная функциональная нейрохимия располагает огромным клиническим материалом по применению разнообразных психофармакологических и наркотических веществ и ряду патологических состояний организма человека, свидетельствующих о значительных изменениях и нарушениях в метаболизме белков нервной системы. Ввиду исключительного разнообразия экспериментального и клинического материала по данной проблеме мы ограничимся лишь отдельными примерами.

Все разнообразие функционального состояния нервной системы кодируется в виде нервной импульсации. Физиологи обстоятельно изучили такие состояния нервной системы, как торможение и возбуждение. Одной из актуальных задач функциональной нейрохимии является изучение биохимических процессов, происходящих при торможении или возбуждении нервной системы. Так, например, установлена корреляция в изменениях интенсивности обмена белков нервной ткани и степени торможения или стимуляции функционального состояния нервной системы. Нервная ткань является исключительно сложной морфологической структурой, а в биохимическом отношении чрезвычайно гетерогенной системой, состоящей из разнообразных простых и сложных белков и небелковых компонентов. Этим в значительной мере и определяется исключительная трудность обнаружения количественных и качественных изменений белков и белковых комплексов в разных отделах ЦНС и ПНС как в норме, так и при различных функциональных состояниях нервной системы. Только метод радиоактивной индикации позволил значительно расширить возможности биохимических исследований в опытах *in vivo* и *in vitro*. Исследовалась интенсивность обмена суммарных белков головного мозга при различных воздействиях, начиная от различного рода гипоксии, гипотермии, глубокого наркоза и кончая естественным сном. В частности, в нашей лаборатории были проведены многочисленные исследования, касающиеся измене-



ний в интенсивности обмена белков нервной ткани при различных формах и тяжести гипоксии. Животным или вводили  $\text{NaNO}_2$ , который вызывал гемическую гипоксию, или помещали их в барокамеру на различные сроки таким образом, что возникала гипоксия различной тяжести. Одновременно животным вводились меченые предшественники —  $^{14}\text{C}$ -аминокислоты,  $^{14}\text{C}$ -ацетат и др. При этом, несмотря на различные условия постановки опытов и разный возраст животных, во всех случаях при средней и в особенности тяжелой формах гипоксии наблюдалось замедленное включение меченых предшественников, что свидетельствовало о снижении биосинтеза белка в нервной ткани при гипоксическом состоянии животного. Г. Е. Владимиров и его сотрудники установили, что при гипотермии также резко снижается внедрение аминокислот (глицина, метионина, тирозина) в белки головного мозга, особенно в белки серого вещества больших полушарий, которые характеризуются высокой обновляемостью.

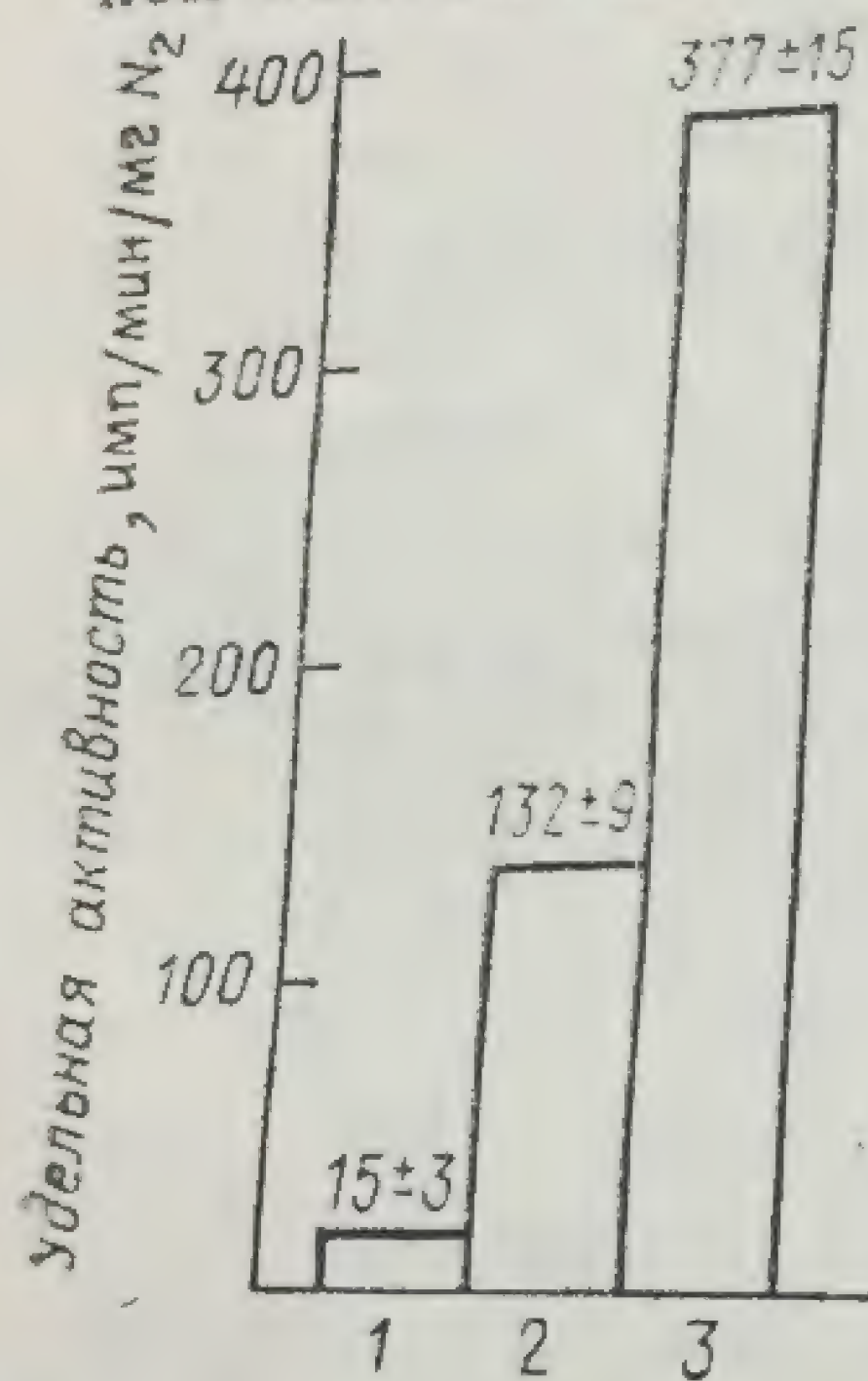


Рис. 29. Удельная активность белка головного мозга суслика (Палладин, 1972)

1 — спящие животные; 2 — бодрствующие; 3 — искусственно пробужденные. торможения нервной системы. В этом отношении зимняя спячка представляет собой более адекватное состояние торможения ЦНС в интактном организме. А. В. Палладин и его сотрудники провели исследования по изучению интенсивности белков головного мозга у зимне спящих животных — сусликов (рис. 29). Состояние зимней спячки характеризуется резким понижением физиологических функций (дыхания, кровообращения, выделения) и одновременно резким снижением обмена веществ и торможением деятельности ЦНС. Изучалась интенсивность включения метионина  $^{35}\text{S}$  в суммарные белки. В период зимней спячки (1) наблюдалось резкое снижение обновляемости белков головного мозга. При искусственном

Много исследований посвящено действию наркотических и психофармакологических веществ. Как правило, различные фармакологические вещества снижают интенсивность обмена белков головного мозга. Так, в опытах *in vivo* при введении аминазина, резерпина и морфина интенсивность включения  $^{14}\text{C}$ -лизина в суммарные белки белого вещества больших полушарий и в белки рибосомальной фракции нейронов снижается. Одновременно замедляется тканевое дыхание, гликолиз, окислительное фосфорилирование, а также образование и распад макроэргов (АТФ и др.).

Однако указанные выше воздействия, вызывающие замедление или подавление биосинтеза белка, не являются адекватным состоянием нормального организма. В этом отношении зимняя спячка представляет собой более адекватное состояние торможения ЦНС в интактном организме. А. В. Палладин и его сотрудники провели исследования по изучению интенсивности белков головного мозга у зимне спящих животных — сусликов (рис. 29). Состояние зимней спячки характеризуется резким понижением физиологических функций (дыхания, кровообращения, выделения) и одновременно резким снижением обмена веществ и торможением деятельности ЦНС. Изучалась интенсивность включения метионина  $^{35}\text{S}$  в суммарные белки. В период зимней спячки (1) наблюдалось резкое снижение обновляемости белков головного мозга. При искусственном



пробуждении (3) у животных наблюдалось резкое повышение первой деятельности и интенсивности обновления белков. Установлено, что интенсивность обмена белков мозга по  $^{35}\text{S}$  в среднем повышалась в 25 раз по сравнению с белками спящих животных (см. рис. 29). Причем авторами было показано, что интенсивность обмена белков головного мозга у спящих животных (1), у бодрствующих контрольных (2) и у искусственно пробужденных (3) зависит от функционального состояния животного, в то время как проницаемость гемато-энцефалического барьера существенно не изменяется при данных состояниях. Эти исследования представляют огромный интерес, так как вызвать столь резкое подавление или повышение физиологических функций в опытах *in vivo* практически невозможно.

Многочисленные исследования посвящены также изучению интенсивности метаболизма белков нервной ткани в состоянии возбуждения животного организма, вызванного различными экзогенными и эндогенными факторами. Палладин, Велш, Рихтер, Лайт и другие исследователи показали, что при возбуждении, вызванном электрическим раздражением, наблюдается повышение интенсивности включения меченых аминокислот ( $^{14}\text{C}$ -глутамата,  $^{35}\text{S}$ -метионина и др.) в белки головного мозга. Однако очень сильное электрическое раздражение, приводящее к судорогам, вызывает замедление обновляемости белков. В дальнейшем было установлено, что при возбуждении ЦНС слабым или умеренным электрическим раздражением биохимические изменения могут наблюдаться, но могут и отсутствовать. Если же электрически раздражать непосредственно ганглии, то в цитоплазме последних всегда будет иметь место повышение содержания белков.

Кроме того, в опытах на срезах коры больших полушарий и в опытах *in vivo* изучалось специфическое влияние различных возбуждающих фармакологических веществ — фенамина, коразола и стрихнина. Так, после 2,5-часового возбуждения, вызванного введением фенамина, наблюдалось интенсивное включение  $^{35}\text{S}$ -метионина в белки головного мозга кроликов.

Установлено, что в результате кратковременной световой стимуляции в нейронах сетчатки повышается содержание белка и РНК. Напротив, продолжительная световая стимуляция, вызывающая утомление, а также выключение световой стимуляции на длительное время путем зашивания век животному, вызывают отчетливое снижение скорости включения  $^{14}\text{C}$ -лейцина в суммарные белки и в рибонуклеопротеиды ганглионарных клеток сетчатки.

Связь обмена белков нервной ткани с функциональным состоянием ЦНС и ПНС подтверждают также опыты с повышенной нервно-мышечной деятельностью. В этих условиях в нервной ткани обнаружены существенные изменения интенсивно-



сти метаболизма белка. Для повышения мышечной деятельности, как правило, проводятся опыты с плаванием или бегом животных. При этом определяется скорость включения меченых аминокислот ( $^{14}\text{C}$ -лизина) в белки головного мозга. Относительно кратковременное плавание или бег (в пределах 1 ч) вызывают повышенное включение меченых аминокислот в белки. Напротив, при более длительном плавании или беге (2 ч и более) включение аминокислот в белки мозга замедляется, что связано с переутомлением (истощением) испытуемых животных. Причем, по мнению исследователей, в этих опытах имеет место не нарушение белкового обмена, а изменение физиологических функций (дыхания, кровообращения и т. д.), что сказывается на изменении обменных процессов в нервной ткани, и прежде всего на снижении энергетического обмена и уровня макроэргов.

Таким образом, в опытах с физиологически адекватными и неадекватными воздействиями при повышенной функциональной активности нервной системы имеют место значительные изменения в интенсивности включения меченых аминокислот в белки, причем эти изменения неодинаковы в различных отделах головного мозга: в больших полушариях > в мозжечке > в стволе мозга и т. д. Однако, несмотря на разнообразие и порой противоречивость полученных данных, напрашивается вывод о том, что белки нервной ткани характеризуются высокой метаболической активностью, которая особенно отчетливо проявляется в субклеточных структурах. В микроструктурах нервной ткани при изменении функциональных состояний (торможении и возбуждении) наблюдаются сложные взаимодействия, при этом степень возбуждения и торможения также может быть неодинаковой. И. П. Павлов охарактеризовал это состояние, как «функциональную мозаичность». Чтобы получить более «однородное» состояние нервной ткани головного мозга, исследователи применяют в опытах разлитое возбуждение, например появление судорог вплоть до полного истощения, а также вызывают глубокое торможение наркотическими средствами.

Структурные изменения белков нервной ткани имеют, как правило, обратимый характер, т. е. после прекращения возбуждения или торможения структура белковой молекулы восстанавливается. Это является хотя и косвенным, но достаточно убедительным доказательством того, что изменения белковой молекулы обусловлены функциональным состоянием нервной ткани. Несомненно и то, что при физиологической стимуляции изменения метаболизма белков в нервной системе нормального организма человека и животных происходят только в определенных пределах. В этом состоит особенность нервной системы, так как она располагает исключительно мощными и разнообразными регуляторными механизмами, обеспечивающими относительно постоянный и притом высокий уровень метаболизма.



## Глава 7

### АМИНОКИСЛОТЫ И ПЕПТИДЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Аминокислоты и пептиды играют исключительно важную роль в метаболизме и функционировании головного мозга. В ткани мозга содержатся все аминокислоты, необходимые не только для построения белков, но и для синтеза некоторых липидов, ряда гормонов, витаминов, нуклеотидов, биологически активных аминов, пептидов и других жизненно важных соединений. Не менее существенна энергетическая роль аминокислот головного мозга, поскольку аминокислоты глутаминовой группы непосредственно связаны с циклом трикарбоновых кислот. Исследованиями последних лет установлены новые аспекты функционального значения аминокислот, возможно, некоторые из них участвуют в синаптической передаче, выступая в качестве нейротрансмиттеров в нервной ткани.

Участие пептидов в функционировании нервной системы изучено мало. Они оказывают влияние на возбудимость нейрональной ткани, выполняют роль медиаторов и модуляторов различных процессов, участвуют в осуществлении межнейрональной связи; их действие на нейрональную активность выражается в изменении поведенческих реакций животных.

#### 7.1. СОДЕРЖАНИЕ, ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ТРАНСПОРТ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ

При нормальных физиологических условиях головной мозг характеризуется постоянством состава и распределения свободных аминокислот. Причем, нервная ткань обладает удивительной способностью поддерживать относительное постоянство уровней аминокислот при различных физиологических и даже некоторых патологических состояниях. Аминокислотный фонд (или пул) мозга имеет характерный состав, отличающийся от состава его в других органах. Как видно из табл. 36, фонд сво-



бодных аминокислот мозга составляет в среднем 34 мкмоль на 1 г ткани, что в 10 раз превышает содержание аминокислот в плазме крови.

Таблица 35

Содержание свободных аминокислот в мозгу, плазме крови и цереброспинальной жидкости человека, мкмоль г ткани(мл)  
(Guroff, 1972)

Аминокислота	Мозг	Плазма	ЦСЖ
Глутаминовая	10,6	0,05	0,225
N-ацетиласпарагиновая	5,7	—	—
Глутамин	4,3	0,70	0,030
Гамма-аминомасляная	2,3	—	—
Аспарагиновая	2,2	0,01	0,007
Цистатионин	1,9	—	—
Таурин	1,9	0,10	—
Глицин	1,3	0,40	0,013
Аланин	0,9	0,40	0,017
Глутатион	0,7	0,10	0,010
Серин	0,7	0,10	0,010
Треонин	0,2	0,15	0,025
Триптофан	0,05	0,05	0,010
Валин	0,2	0,25	0,013
Лизин	0,1	0,12	0,014
Лейцин	0,1	0,15	0,004
Пролин	0,1	0,10	—
Аспарагин	0,1	0,07	—
Метионин	0,1	0,02	0,003
Изолейцин	0,1	0,10	0,080
Аргинин	0,1	0,10	0,060
Цистеин	0,1	0,10	0,002
Фенилаланин	0,1	0,10	0,010
Тирозин	0,1	0,10	0,006
Гистидин	0,1	0,10	0,003

Аминокислотный пул нервной ткани отличается от других тканей прежде всего высокой концентрацией глутамата и его производных—глутамина, аспарагиновой, N-ацетиласпарагиновой и  $\gamma$ -аминомасляной кислот (ГАМК), а также их интенсивным метаболизмом. Эти пять аминокислот составляют 75% фонда всех свободных аминокислот головного мозга, а ГАМК и N-ацетиласпарагиновая кислоты локализованы в основном в нервной ткани. Высокое содержание аминокислот глутаминовой группы в нервной системе, вероятно, имеет важное функциональное значение, так как высокие концентрации этих кислот обнаружены в мозгу всех изученных видов животных.

Несмотря на постоянство качественного состава и концентраций аминокислот в целом мозгу, содержание их в различных отделах мозга существенно отличается. Региональная неоднород-



бодных аминокислот мозга составляет в среднем 34 мкмоль на 1 г ткани, что в 10 раз превышает содержание аминокислот в плазме крови.

Таблица 36

Содержание свободных аминокислот в мозгу, плазме крови и цереброспинальной жидкости человека, мкмоль/г ткани(мл)  
(Guroff, 1972)

Аминокислота	Мозг	Плазма	ЦСЖ
Глутаминовая	10,6	0,05	0,225
N-ацетиласпарагиновая	5,7	—	—
Глутамин	4,3	0,70	0,030
Гамма-аминомасляная	2,3	—	—
Аспарагиновая	2,2	0,01	0,007
Цистатионин	1,9	—	—
Таурин	1,9	0,10	—
Глицин	1,3	0,40	0,013
Аланин	0,9	0,40	0,017
Глутатион	0,7	0,10	0,010
Серин	0,7	0,10	0,010
Треонин	0,2	0,15	0,025
Триптофан	0,05	0,05	0,010
Валин	0,2	0,25	0,013
Лизин	0,1	0,12	0,014
Лейцин	0,1	0,15	0,004
Пролин	0,1	0,10	—
Аспарагин	0,1	0,07	—
Метионин	0,1	0,02	0,003
Изолейцин	0,1	0,10	0,080
Аргинин	0,1	0,10	0,060
Цистеин	0,1	0,10	0,002
Фенилаланин	0,1	0,10	0,010
Тирозин	0,1	0,10	0,006
Гистидин	0,1	0,10	0,003

Аминокислотный пул нервной ткани отличается от других тканей прежде всего высокой концентрацией глутамата и его производных—глутамина, аспарагиновой, N-ацетиласпарагиновой и γ-аминомасляной кислот (ГАМК), а также их интенсивным метаболизмом. Эти пять аминокислот составляют 75% фонда всех свободных аминокислот головного мозга, а ГАМК и N-ацетиласпарагиновая кислот в нервной ткани.



родность мозга в отношении содержания аминокислот, очевидно, связана с морфологической, физиологической и функциональной гетерогенностью этого органа.

Кроме того, в различных субклеточных структурах имеются свои фонды аминокислот, как показали опыты с поглощением аминокислот изолированными фракциями субклеточных частиц. Различные органеллы клеток мозга могут индивидуально контролировать уровень аминокислот, накапливая их против градиента концентрации. В то же время для субклеточных частиц других тканей, таких как печень, почки, мышца и т. д., такое накопление не характерно.

Постоянство качественного состава аминокислот и их концентраций в метаболических фондах не следует рассматривать как следствие их статического состояния, так как имеет место постоянный отток свободных аминокислот из мозга в кровь, который восполняется их поступлением из циркулирующей крови часто против концентрационных градиентов, а также за счет их образования в реакциях внутриклеточного метаболизма. В организме все эти процессы сбалансированы слаженным функционированием гомеостатических механизмов гемато-энцефалического барьера и мембранным транспортом, благодаря которым относительное постоянство уровней свободных аминокислот в метаболических фондах нервной ткани поддерживается не только в норме, но и при существенных изменениях физиологического состояния организма. В настоящее время показано, что большинство церебральных метаболитов, включая и пул свободных аминокислот, находится в динамическом состоянии, а транспортные механизмы можно рассматривать как контролирующие в метаболизме мозга.

На основании исследования конкурентных отношений в транспорте аминокислот предполагается наличие восьми классов транспортных систем для аминокислот мозга (Cohen, Lajtha, 1972). Эти транспортные классы существуют для аминокислот родственной структуры и зависят от ионного заряда аминокислот и от размеров их молекул. Следует отметить ряд особенностей мембранного переноса аминокислот: а) перенос их (при оттоке в ткань и выход из нее) часто против высоких концентрационных градиентов; б) зависимость этого процесса от энергии, температуры и рН среды; в) его ингибирование анаэробиезом и ферментными ядами; г) связь переноса аминокислот с активным мембранным транспортом ионов (в частности, ионов  $\text{Na}^+$ ); д) конкурентное торможение мембранного транспорта аминокислот и др. Все это указывает на активный характер и ферментативную природу процессов мембранного переноса аминокислот, однако химическая природа и механизмы действия переносчиков пока не ясны. В настоящее время широко исследуются транслоказы, переносящие аминокислоты через биологи-



ческие мембраны, но выделение этих ферментативных белков в чистом виде без модификации их свойств затруднительно.

Большой интерес представляют недавно обнаруженные в нейрональной ткани особые транспортные системы с высоким сродством к определенным аминокислотам (высокоафинные системы). Такое высокоизбирательное поглощение было впервые найдено для глутаминовой кислоты в синапсах мозга. В дальнейшем было показано, что большинство аминокислот, которые предположительно участвуют в синаптической передаче, имеют две различные транспортные системы в ЦНС — одну обычную, с низким сродством (низкоафинную) и вторую — высокоизбирательную, специфичную только для данной аминокислоты. Такие высокоизбирательные транспортные системы обнаружены для глицина, ГАМК, таурина, L-глутамина, L-аспарагина, глутаминовой кислоты. Полагают, что эти системы служат для инактивации действия нейротрансмиттера в очень короткое время, когда метаболические скорости недостаточно высоки и освобождение нейротрансмиттера и высокоизбирательное поглощение необходимы для активации и инактивации его действия.

Таким образом, аминокислоты головного мозга находятся в динамическом состоянии. Активные транспортные процессы в мозгу играют важную роль в региональном распределении метаболитов, в предохранении головного мозга от различных воздействий, в контроле уровня метаболизма как органа в целом, так и отдельных его областей.

## 7.2. МЕТАБОЛИЗМ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ

Выше указывалось, что более  $2/3$  аминоазота аминокислот приходится на долю глутамата и его производных, причем эти аминокислоты являются доминирующими в количественном отношении в мозгу всех изученных видов животных. В спинном мозгу, так же как и в головном, концентрация глутамата и родственных ему аминокислот выше, чем других аминокислот. В периферических нервах позвоночных, напротив, содержится значительно меньше глутамата, N-ацетиласпартата, чем в головном мозгу, а ГАМК почти полностью отсутствует. Аналогичная картина содержания аминокислот найдена не только у млекопитающих, но и у других классов позвоночных: рыб, амфибий, рептилий, птиц. Очевидно, это связано со специальной ролью, которую играют глутамат и его производные в функциональной деятельности нервной ткани.

### Глутамат и аспартат

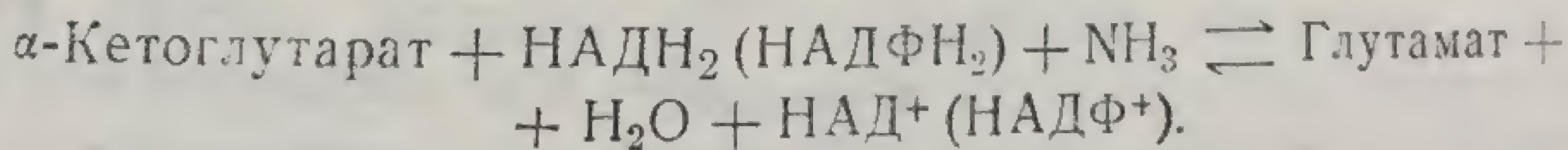
Аминокислоты глутаминовой группы подвергаются быстрому превращению в головном мозгу, чему способствует их тес-



ная связь с интенсивно протекающим в этом органе аэробным окислением. Интересно отметить, что основной энергетический субстрат мозга — глюкоза — быстро превращается в аминокислоты. После инъекции меченой глюкозы значительная часть изотопа, присутствующего в растворимой фракции мозга, обнаруживается в аминокислотах, особенно в глутамате, глутамине, аспартате и ГАМК. Это частично объясняется большим содержанием свободного глутамата, находящегося в равновесии с  $\alpha$ -кетоглутаратом цикла трикарбоновых кислот. Высокий процент включения радиоактивности из глюкозы в аминокислоты мозга (до 70%) явился основанием для предположения, что утилизация глюкозы в этом органе в значительной степени происходит через биосинтез и окисление аминокислот.

Непосредственным предшественником для синтеза глутамата в мозгу является  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота (рис. 30), которая может превращаться в глутамат или путем прямого восстановительного аминирования с участием глутаматдегидрогеназы (КФ 1.4.1.2, 1.4.1.3) или путем переаминирования.

Глутаматдегидрогеназа катализирует реакцию



Ткань мозга обладает высокой глутаматдегидрогеназной активностью. Реакция обратима, однако равновесие сильно смещено в сторону прямой реакции, т. е. синтеза глутаминовой кислоты. Таким образом, в головном мозгу глутаматдегидрогеназная реакция участвует не столько в окислении глутамата, сколько в синтезе его из  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты, обеспечивая тем самым непрерывное превращение свободного аммиака в аминокислоты.

Основной же путь окисления и образования глутамата в мозгу — переаминирование. Так, в митохондриях мозга 90% глутамата окисляется через трансаминирование с образованием

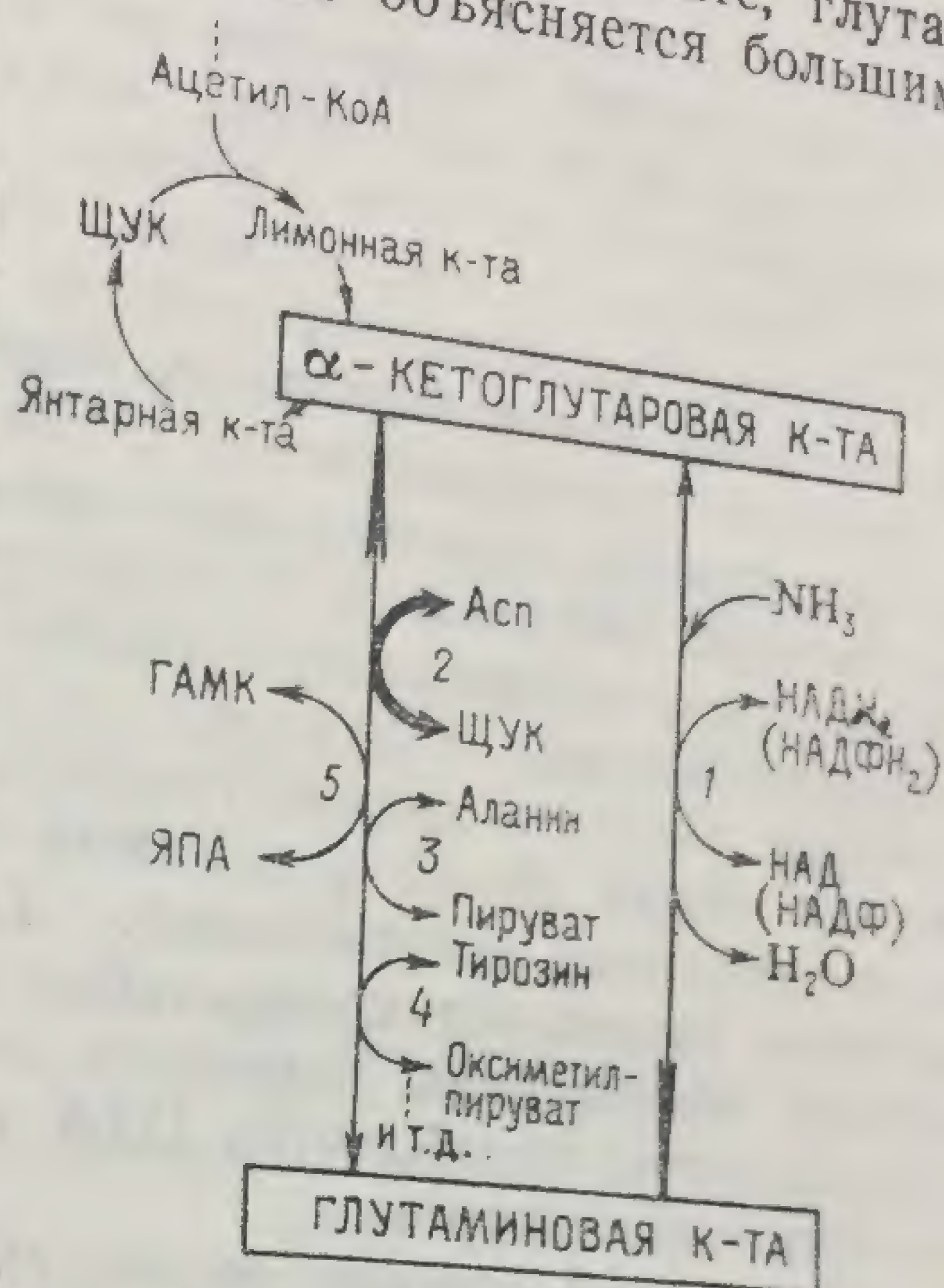


Рис. 30. Схема образования и окисления глутамата в головном мозгу

Ферменты: 1 — глутаматдегидрогеназа; 2 — аспартатаминотрансфераза; 3 — аланинаминотрансфераза; 4 — тирозинаминотрансфераза; 5 — ГАМК-трансаминаза.



лотах, особенно в глутамате, глута-  
 Это частично объясняется большим



Рис. 30. Схема образования и окис-  
 ления глутамата в головном мозгу

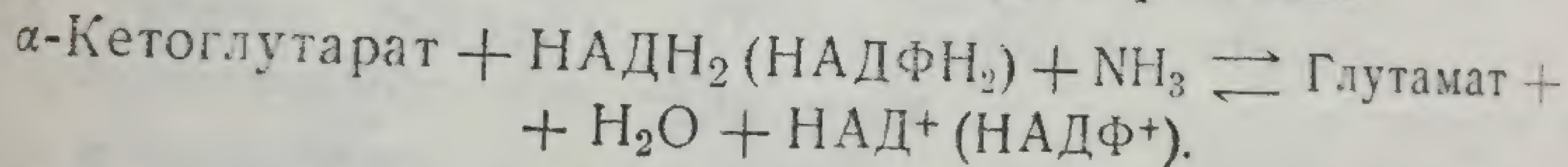
Ферменты: 1 — глутаматдегидрогена-  
 за; 2 — аспартатаминотрансфераза; 3 —  
 аланинаминотрансфераза; 4 — тирозин-  
 аминотрансфераза; 5 — ГАМК-транса-  
 миназа.



равновесии с  $\alpha$ -кетоглутаратом цикла трикарбоновых кислот. Высокий процент включения радиоактивности из глюкозы в аминокислоты мозга (до 70%) явился основанием для предположения, что утилизация глюкозы в этом органе в значительной степени происходит через биосинтез и окисление аминокислот.

Непосредственным предшественником для синтеза глутамата в мозгу является  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота (рис. 30), которая может превращаться в глутамат или путем прямого восстановительного аминирования с участием глутаматдегидрогеназы (КФ 1.4.1.2, 1.4.1.3) или путем переаминирования.

Глутаматдегидрогеназа катализирует реакцию



Ткань мозга обладает высокой глутаматдегидрогеназной активностью. Реакция обратима, однако равновесие сильно смещено в сторону прямой реакции, т. е. синтеза глутаминовой кислоты. Таким образом, в головном мозгу глутаматдегидрогеназная реакция участвует не столько в окислении глутамата, сколько в синтезе его из  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты, обеспечивая тем самым непрерывное превращение свободного аммиака в аминоазот аминокислот.

Основной же путь окисления и образования глутамата в мозгу — переаминирование. Так, в митохондриях мозга 90% глутамата окисляется через трансаминирование с образованием

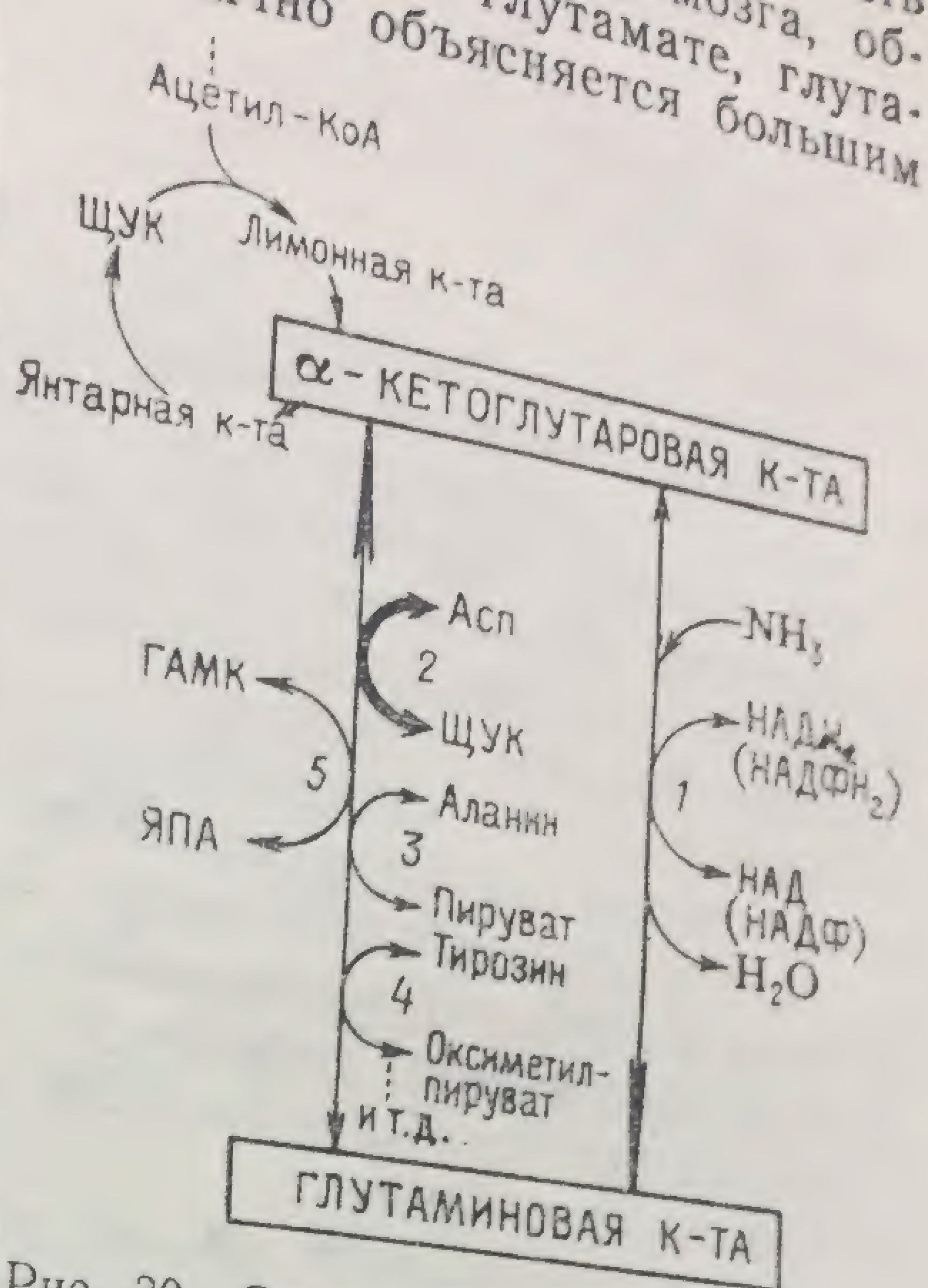


Рис. 30. Схема образования и окисления глутамата в головном мозгу. Ферменты: 1 — глутаматдегидрогеназа; 2 — аспартатаминотрансфераза; 3 — аланинаминотрансфераза; 4 — тирозинаминотрансфераза; 5 — ГАМК-трансаминаза.



аспартата. Фермент, катализирующий переаминирование глутамата со щавелевоуксусной кислотой (ЩУК) — аспартатаминотрансфераза (КФ 2.6.1.1.), является наиболее мощной трансаминазой в головном мозгу. Выделены два изоэнзима аспартатаминотрансферазы, локализованные в митохондриях и цитоплазме. Функциональная роль их различна: митохондриальный фермент связан в основном с функционированием ЦТК, цитоплазматический определяет интенсивность глюконеогенеза.

В регуляции отношения между этими двумя путями, конкурирующими за один субстрат, важная роль принадлежит макроэргическим соединениям. Оказалось, что изолированная глутаматдегидрогеназа реагирует как с НАД<sup>+</sup>, так и с НАДФ<sup>+</sup>, в то время как в интактных митохондриях этот фермент взаимодействует преимущественно с НАДФ<sup>+</sup>. Интенсивность этой реакции пропорциональна отношению НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН<sub>2</sub>. Макроэргические соединения способствуют восстановлению НАДФ<sup>+</sup> через трансгидрогеназную реакцию и тем самым подавляют дезаминирование глутамата. Наоборот, трансаминазный путь требует участия макроэргических соединений, поэтому выбор между этими двумя реакциями определяется энергетическими возможностями митохондрий. Таким образом, глутаминовая кислота выполняет чрезвычайно важную функцию в энергетическом обеспечении головного мозга, которая заключается в поддержании метаболитов ЦТК на определенном и притом довольно высоком уровне.

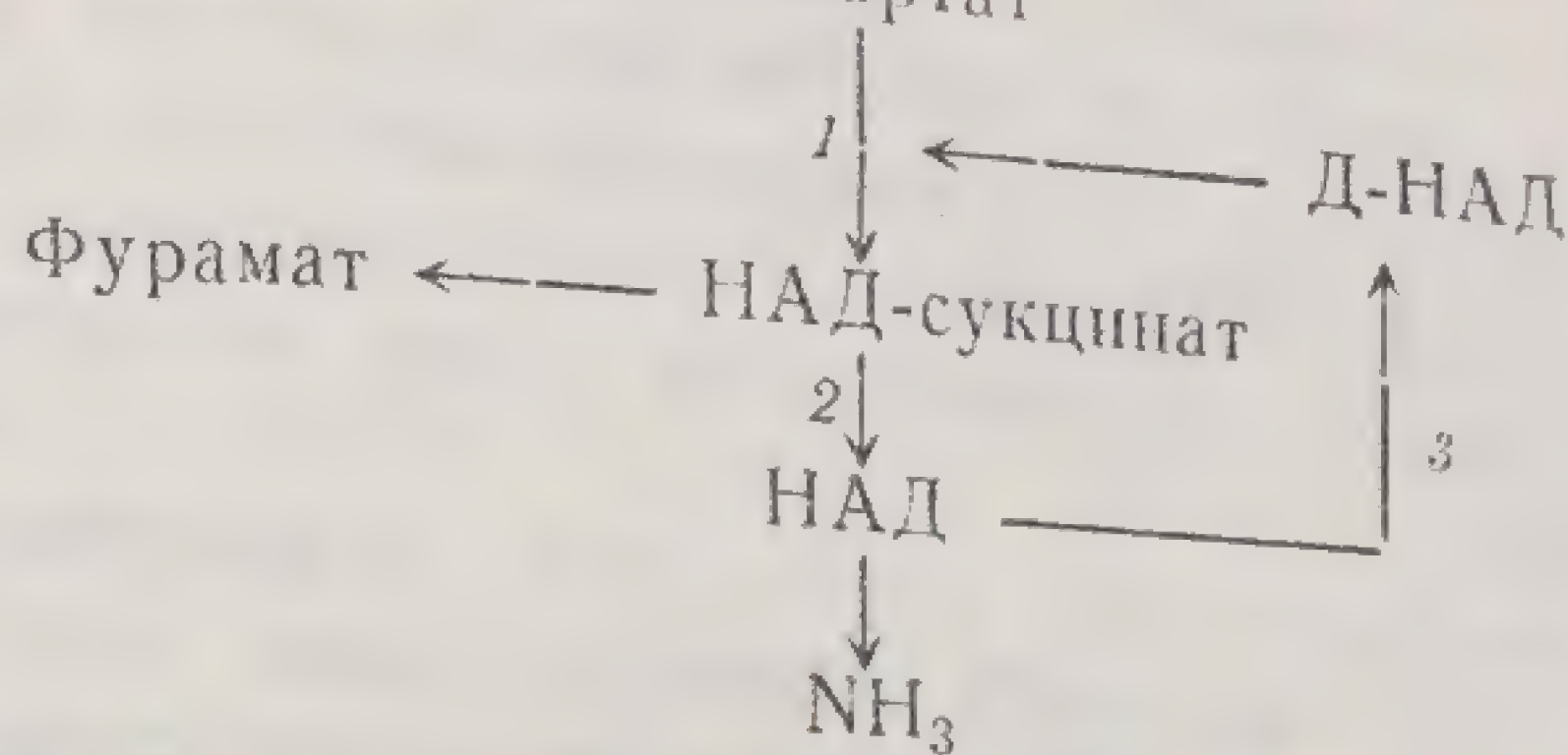
Еще одной важной функцией аминокислот глутаминовой группы является участие их в устранении и образовании аммиака в нервной ткани. Свободный аммиак в норме в головном мозгу крысы содержится в количестве 0,20 мг% (0,16 мкмоль на 1 г ткани). Многочисленные исследования, проведенные в различных лабораториях, установили повышение уровня аммиака в мозговой ткани при интенсивной мозговой активности различного происхождения. При подавлении нервной деятельности (наркотическое состояние, условное торможение и т. д.) содержание его, напротив, понижается. По мнению многих авторов, аммиак играет важную роль в процессах возбуждения и торможения нервной деятельности. Источниками аммиака в нервной ткани могут быть нуклеотиды, глутамин, амидные группы белков и многие др.

Большой интерес представляет процесс образования аммиака из глутамата. В головном мозгу обнаружены многочисленные аминотрансферазы основных, кислых, нейтральных и ароматических аминокислот. При участии этих ферментов аминокислоты различных аминокислот оказываются в конечном счете α-аминогруппами глутаминовой кислоты. Последние переаминируются со щавелевоуксусной кислотой при участии аспартатаминотрансферазы с образованием аспартата. Образование аммиака из аспартата происходит двояким образом. В одном слу-



чае оно сопряжено с реаминированием дезаминоформ НАД, который затем вновь дезаминируется согласно схеме (Бунятян, 1973):

Аминокислоты → Глутамат ↔ Аспартат

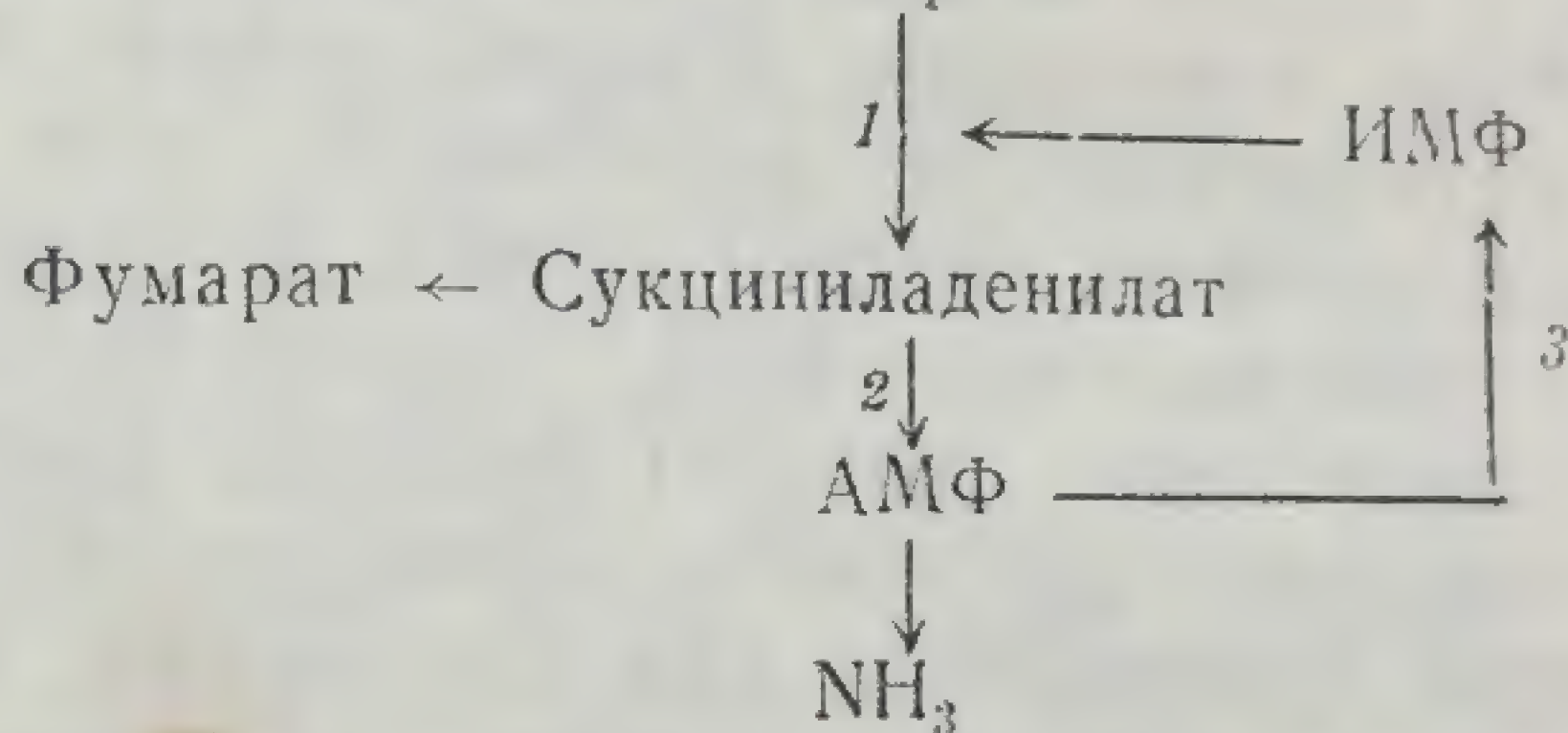


Цикл этих превращений включает три ферментативные реакции:

1. Аспартат + Д-НАД  $\xrightarrow{\text{НАД-сукцинатсинтетаза}}$  НАД-сукцинат
2. НАД-сукцинат  $\xrightarrow{\text{НАД-сукцинатлиаза}}$  НАД + фумарат
3. НАД  $\xrightarrow{\text{НАД-деаминаза}}$  Д-НАД +  $\text{NH}_3$ .

В другом цикле аспартат реаминирует ИМФ по схеме:

Аминокислоты → Глутамат ↔ Аспартат

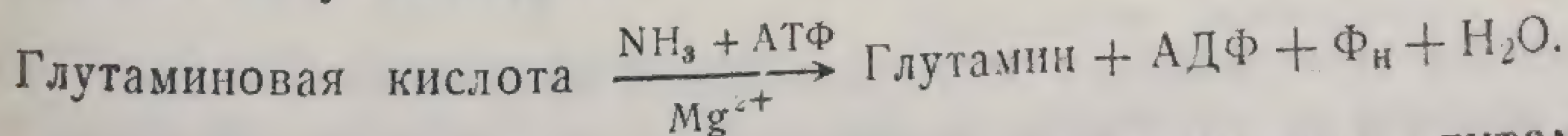


Этот цикл также включает три ферментативные реакции (Кометиани, 1967; Lowenstein, Hollander, 1973).

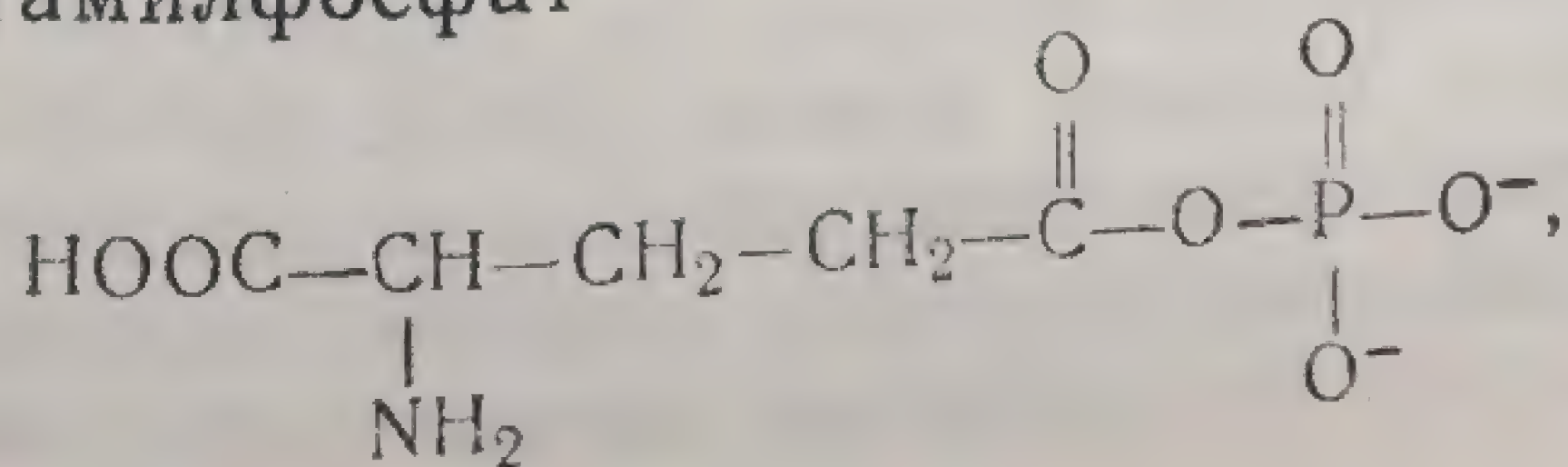
1. Аспартат + ИМФ  $\xrightarrow{\text{Аденилсукцинатсинтетаза}}$  Сукциниладенилат
2. Сукциниладенилат  $\xrightarrow{\text{Аденилсукцинатлиаза}}$  Фумарат + АМФ
3. АМФ  $\xrightarrow{\text{Аденилатдеаминаза}}$  ИМФ +  $\text{NH}_3$ .

Таким образом, эти два циклических процесса являются основными путями образования физиологических концентраций аммиака в нервной ткани.

Устранение аммиака в ЦНС осуществляется, как известно, в результате глутаминсинтетазной реакции:

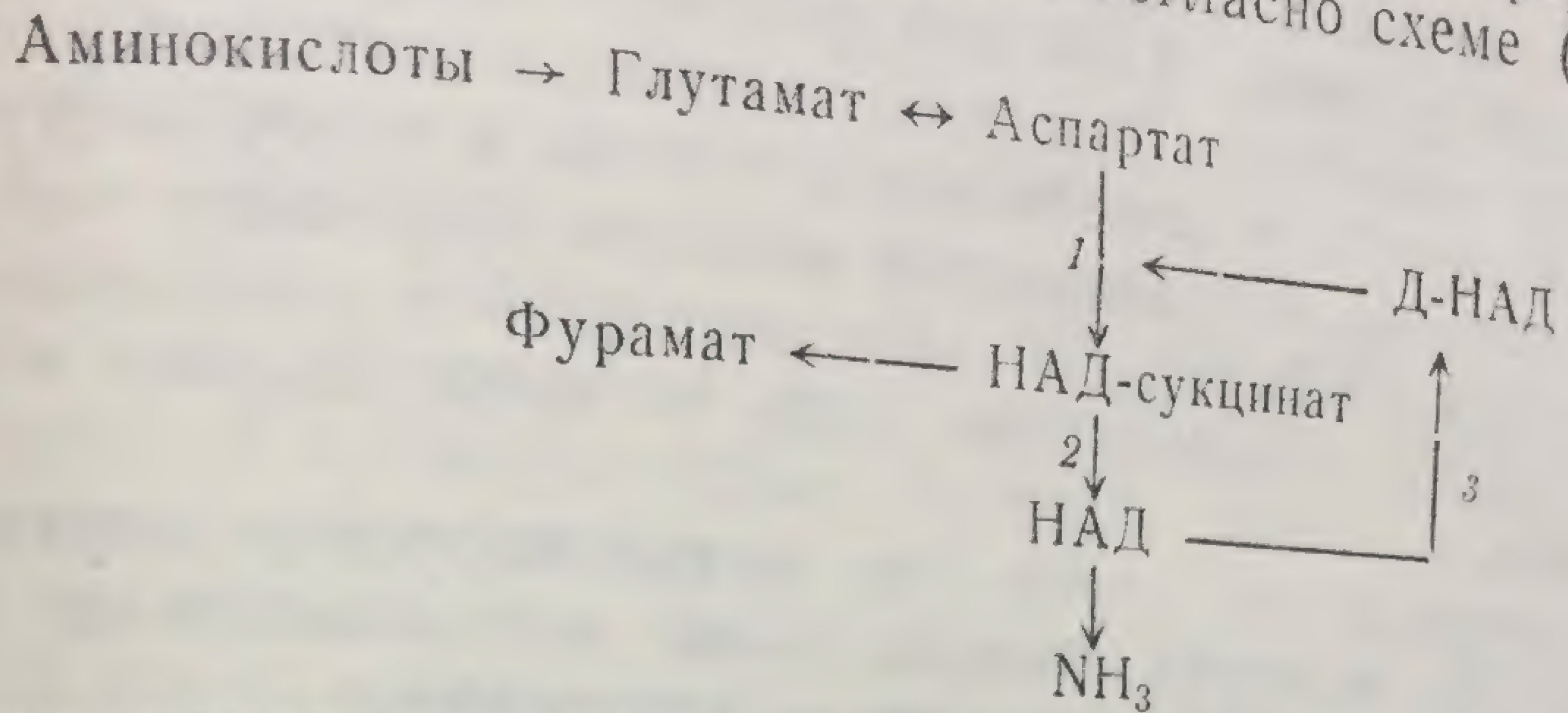


Промежуточным продуктом в процессе образования глутамина является  $\gamma$ -глутамилфосфат





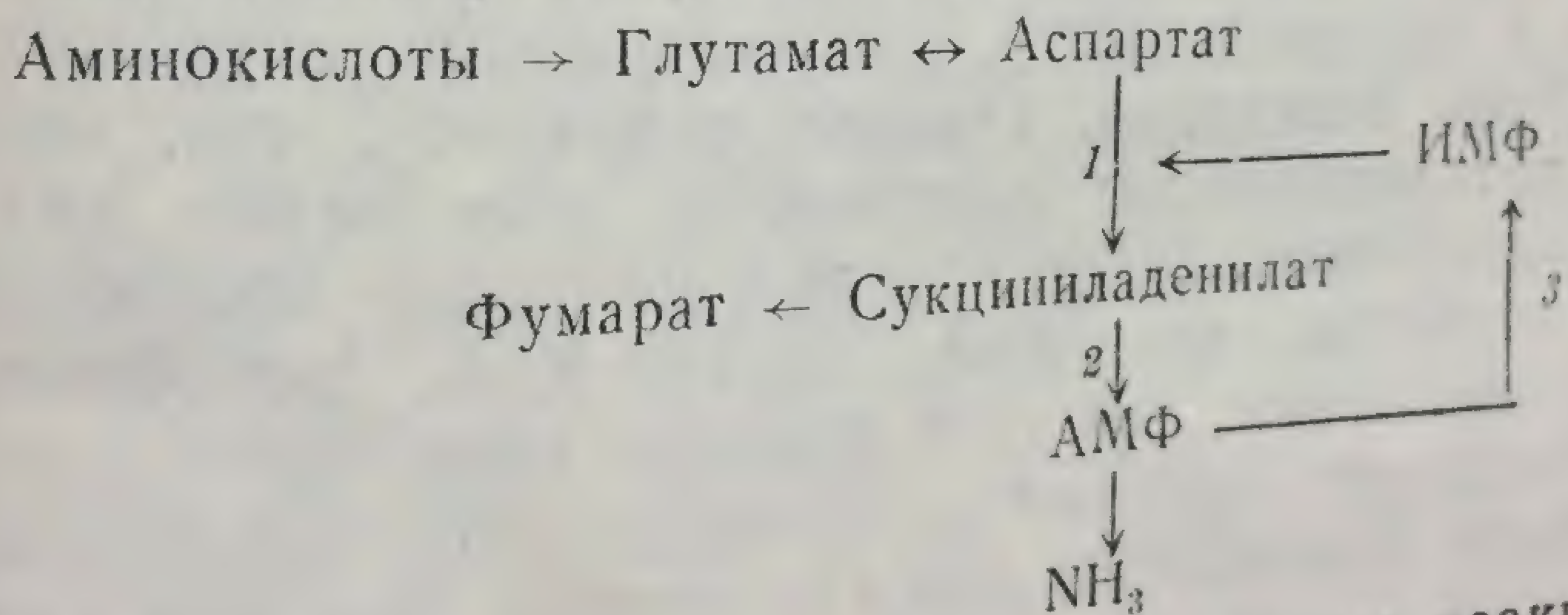
чае оно сопряжено с реаминированием дезаминаформ НАД, который затем вновь дезаминируется согласно схеме (Бунятян, 1973):



Цикл этих превращений включает три ферментативные реакции:

1. Аспартат + Д-НАД  $\xrightarrow{\text{НАД-сукцинатсинтетазы}}$  НАД-сукцинат
2. НАД-сукцинат  $\xrightarrow{\text{НАД-сукцинатлиазы}}$  НАД + фурамат
3. НАД  $\xrightarrow{\text{НАД-дезаминазы}}$  Д-НАД +  $\text{NH}_3$ .

В другом цикле аспартат реаминирует ИМФ по схеме:



Этот цикл также включает три ферментативные реакции (Кометиани, 1967; Lowenstein, Hollander, 1973).

1. Аспартат + ИМФ  $\xrightarrow{\text{Аденилсукцинатсинтетазы}}$  Сукцинил-аденилат
2. Сукцинил-аденилат  $\xrightarrow{\text{Аденилсукцинатлиазы}}$  Фурамат + АМФ
3. АМФ  $\xrightarrow{\text{Аденилатдезаминазы}}$  ИМФ +  $\text{NH}_3$ .

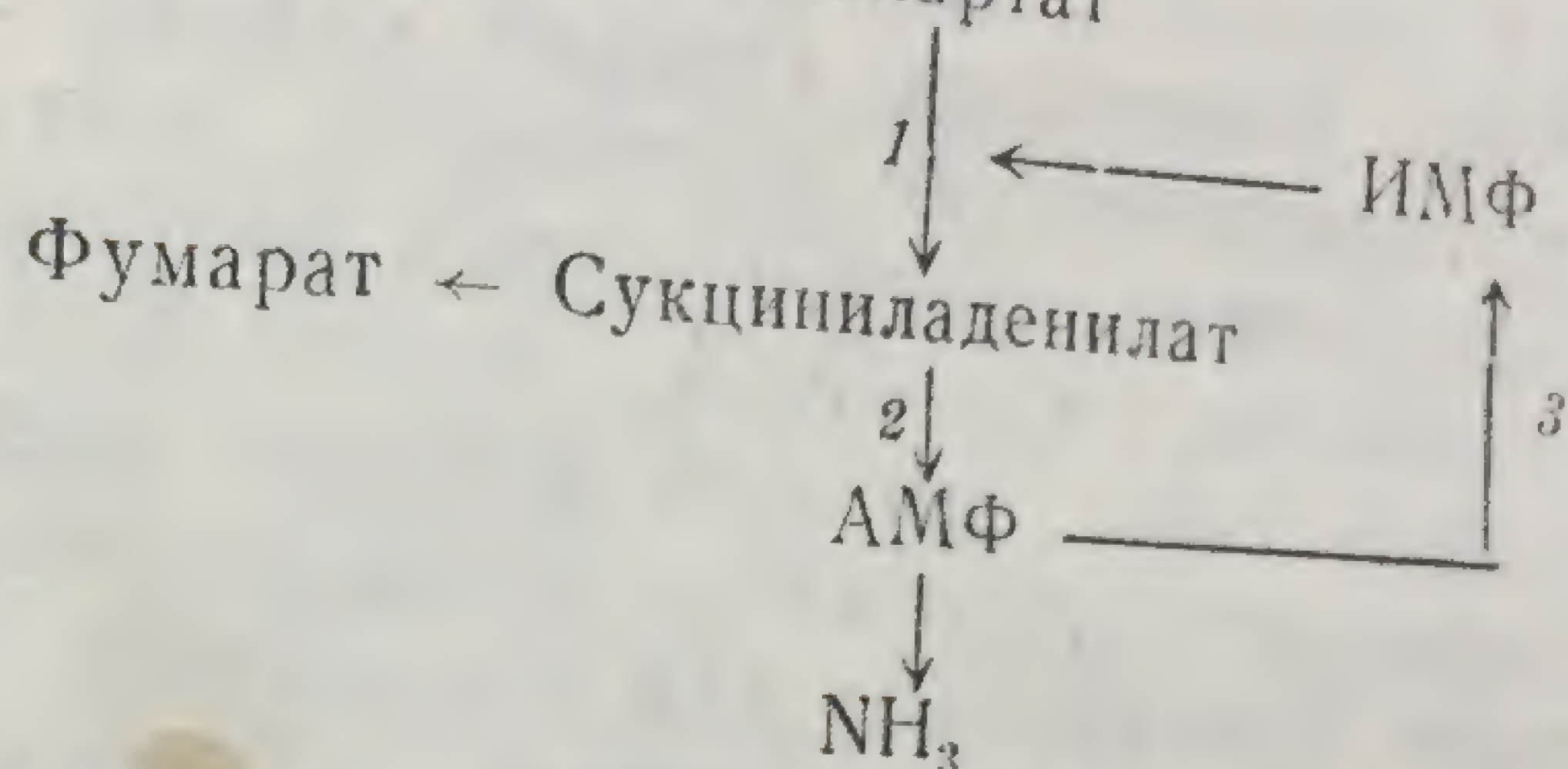
Таким образом, эти два циклических процесса являются основными путями образования физиологических концентраций аммиака в нервной ткани. В ЦНС осуществляется, как известно, реакция:



Цикл этих превращений включает три ферментативные реакции:

1. Аспартат + Д-НАД  $\xrightarrow{\text{НАД-сукцинатсинтетаза}}$  НАД-сукцинат
2. НАД-сукцинат  $\xrightarrow{\text{НАД-сукцинатлиаза}}$  НАД + фумарат
3. НАД  $\xrightarrow{\text{НАД-деаминаза}}$  Д-НАД + NH<sub>3</sub>.

В другом цикле аспартат реаминирует ИМФ по схеме:

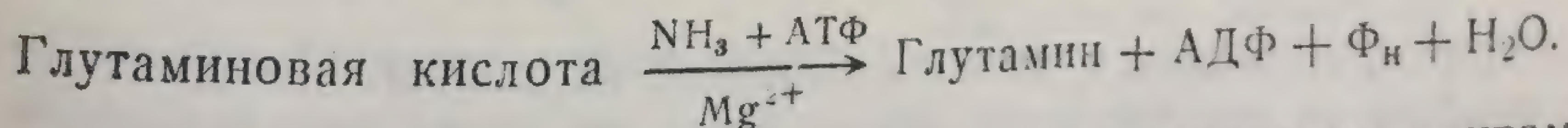


Этот цикл также включает три ферментативные реакции (Кометиани, 1967; Lowenstein, Hollander, 1973).

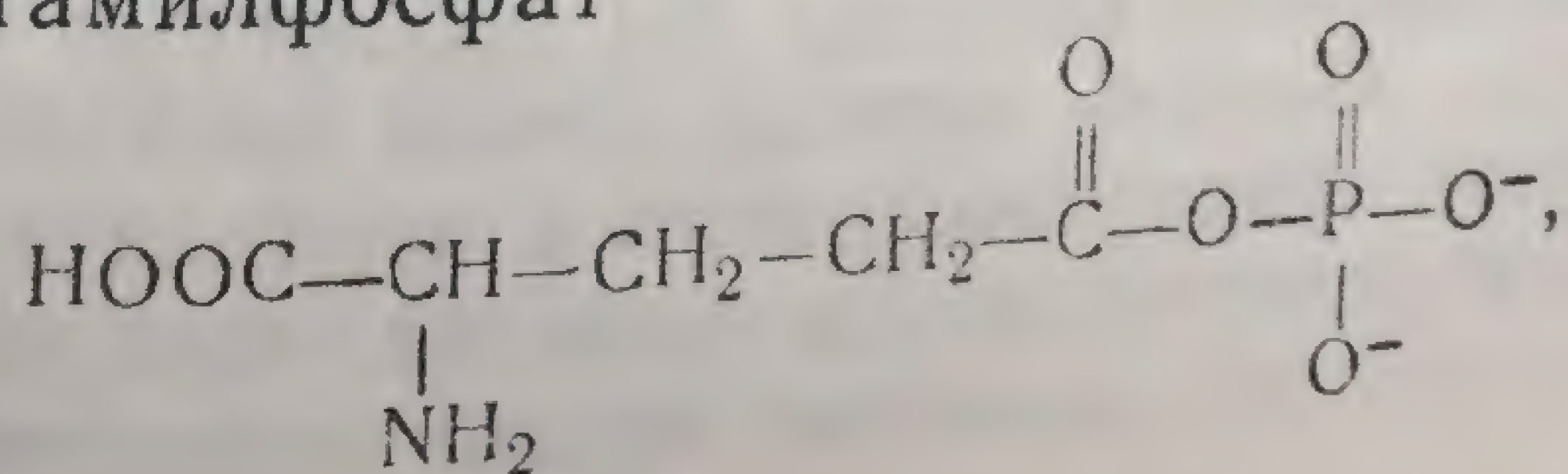
1. Аспартат + ИМФ  $\xrightarrow{\text{Аденилсукцинатсинтетаза}}$  Сукциниладенилат
2. Сукциниладенилат  $\xrightarrow{\text{Аденилсукцинатлиаза}}$  Фумарат + АМФ
3. АМФ  $\xrightarrow{\text{Аденилатдеаминаза}}$  ИМФ + NH<sub>3</sub>.

Таким образом, эти два циклических процесса являются основными путями образования физиологических концентраций аммиака в нервной ткани.

Устранение аммиака в ЦНС осуществляется, как известно, в результате глутаминсинтетазной реакции:



Промежуточным продуктом в процессе образования глутамина является γ-глутамилфосфат





который остается связанным с каталитическим центром фермента. В нормальных физиологических условиях, когда имеется достаточный уровень АТФ, эта реакция направлена в сторону связывания аммиака. При ряде тяжелых патологий наиболее мощным источником повышения аммиака в мозгу выступает система глутамин—глутаминовая кислота. Основная часть глутаминсинтетазы (КФ 6.3.1.2) локализована в микросомальной фракции мозга, а небольшая часть ее представлена в нервных окончаниях.

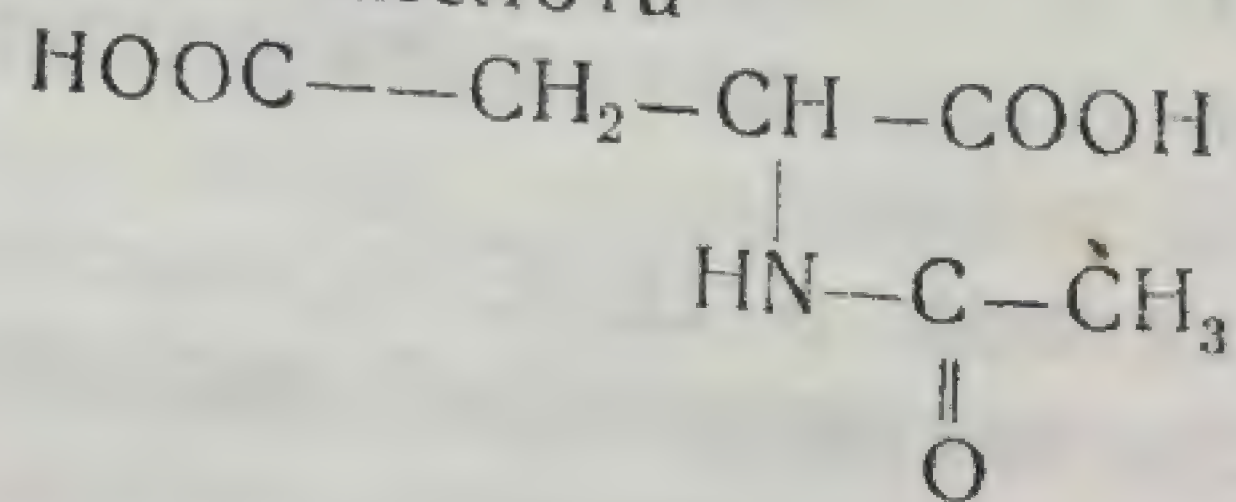
Дезаминирование глутамин катализируется глутаминазой (КФ 3.5.1.2), которая локализована исключительно в митохондриях. Этот фермент катализирует реакцию



Глутаминаза головного мозга представлена двумя изоэнзимами — фосфатзависимой и фосфатнезависимой глутаминазами. Следует отметить, что активность этого фермента в головном мозгу невелика, так как продукт реакции — глутаминовая кислота — сильно тормозит активность фермента. Последнее обстоятельство позволило некоторым авторам предположить, что глутаминаза в головном мозгу, где содержание глутаминовой кислоты велико, неактивна. Однако оказалось, что, несмотря на низкую каталитическую активность, этот фермент активируется рядом модуляторов, среди которых наиболее эффективными являются тироксин, ацил-КоА, ацетил-КоА, рибофлавинфосфат и др. Предполагают, что этот фермент выполняет определенную роль в транспорте глутамата. Известно, что биологические мембраны более проницаемы для глутамин, чем для глутамата, и глутаминаза может участвовать, в частности, в превращении глутамин крови во внутриклеточный глутамат. По мнению ряда авторов, глутаминаза играет важную роль в регуляции содержания глутамата в нервных окончаниях.

### **N-ацетиласпарагиновая кислота**

N-ацетиласпарагиновая кислота



является производным аспарагиновой кислоты. Следует указать, что вообще не обнаружено аминокислот, принадлежащих исключительно нервной системе, так же, как и в других тканях не обнаружено аминокислот, которые бы полностью отсутствовали в нервной системе. Однако определенные производные аминокислот присутствуют преимущественно в нервной ткани. К ним относится N-ацетиласпарагиновая кислота, концентрация которой в головном мозгу большинства видов животных в 2—3 раза

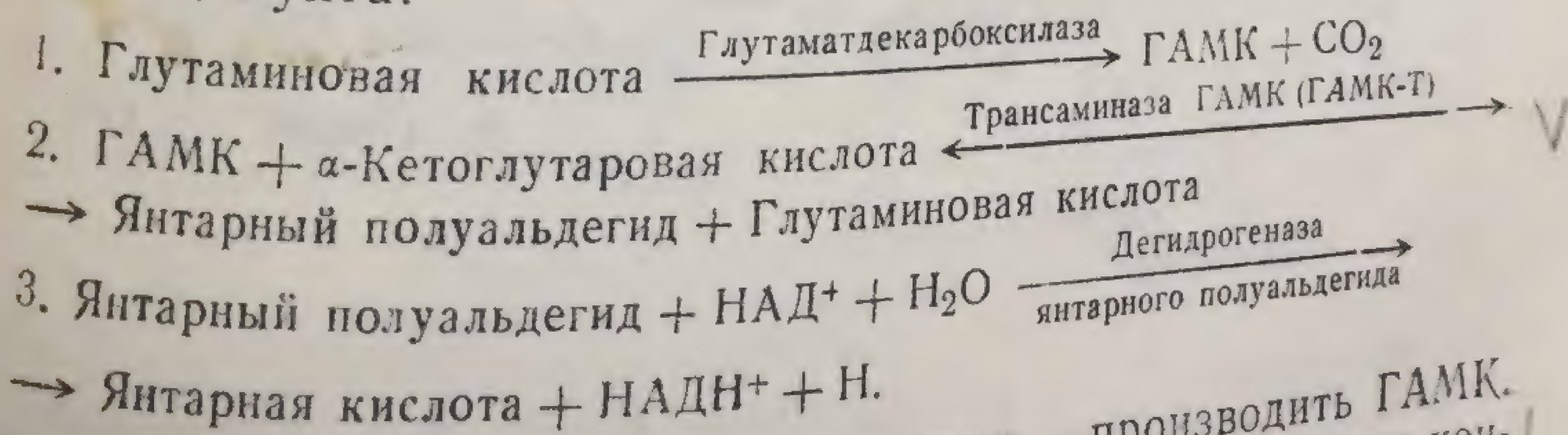


больше, чем аспарагиновой кислоты. Причем, концентрация N-ацетиласпарагиновой кислоты низка при рождении и повышается в процессе развития. Ацетильная группа поставляется от ацетил-КоА. Функция этого соединения окончательно не выяснена, но предполагается, что N-ацетиласпарагиновая кислота является: 1) источником ацетильных групп для ряда биосинтетических процессов (например, эта аминокислота активно используется для биосинтеза ряда нейрональных пептидов) и 2) источником N-блокированных концевых групп для биосинтеза определенных белков мозга.

Долгое время считали, что экзогенная N-ацетиласпарагиновая кислота имеет очень низкую скорость обновления, так как синтезируется она медленно и ее ацетильная и аспартильная группы обмениваются медленно. В дальнейшем оказалось, что в мозговой ткани имеются два пространственно-разделенных фонда N-ацетиласпартата — малый, высокоактивный, локализованный в глии, и большой, медленно обменивающийся, присутствующий в нейронах. Таким образом, N-ацетиласпарагиновая кислота оказалась метаболически более активной, чем полагали прежде. Хотя ее деградация и синтез происходят медленно, эта аминокислота при наложении на мозг быстро захватывается и обменивается в малом активном метаболическом пуле, вероятно, в основном в глиальном. Метаболизм N-ацетиласпартата тесно связан с присутствием аминов, которые образуют с N-ацетиласпартатом сильно щелочно-лабильные соединения. Природа этих соединений неясна, но была показана возможность образования щелочно-лабильного комплекса тРНК—ацетиласпартат. Кроме того, N-ацетиласпартат принимает активное участие в образовании большого семейства N-ацетилированных пептидов мозга.

### Гамма-аминомасляная кислота

Одним из главных компонентов пула свободных аминокислот головного мозга различных животных является  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК), продукт  $\alpha$ -декарбоксилирования глутаминовой кислоты. Цикл превращений ГАМК в мозгу включает 3 сопряженных ферментативных реакции и получил название ГАМК-шунта:

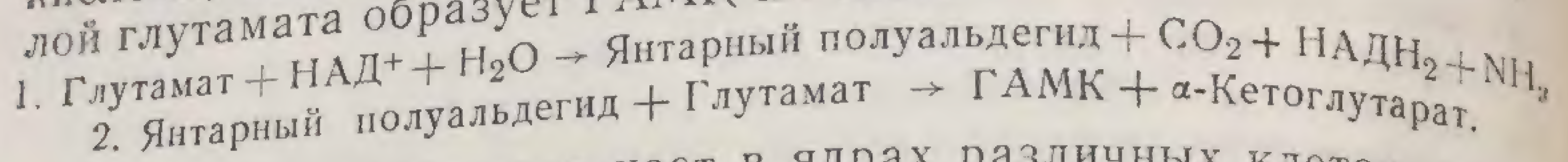


Основная цель функционирования шунта — производить ГАМК. ГАМК обнаружена как в нейронах, так и в глии, в больших концентрациях найдена в синапсоммах. Содержание ее у разных



видов животных колеблется от 1 до 3 мкмоль на 1 г свежей ткани.

Недавно Зейлером и Вагнером (1975) был предложен новый путь образования ГАМК из *L*-глутамата. Согласно их данным, глутамат при участии НАД переходит в полуальдегид янтарной кислоты, который путем трансаминирования со второй молекулой глутамата образует ГАМК по схеме



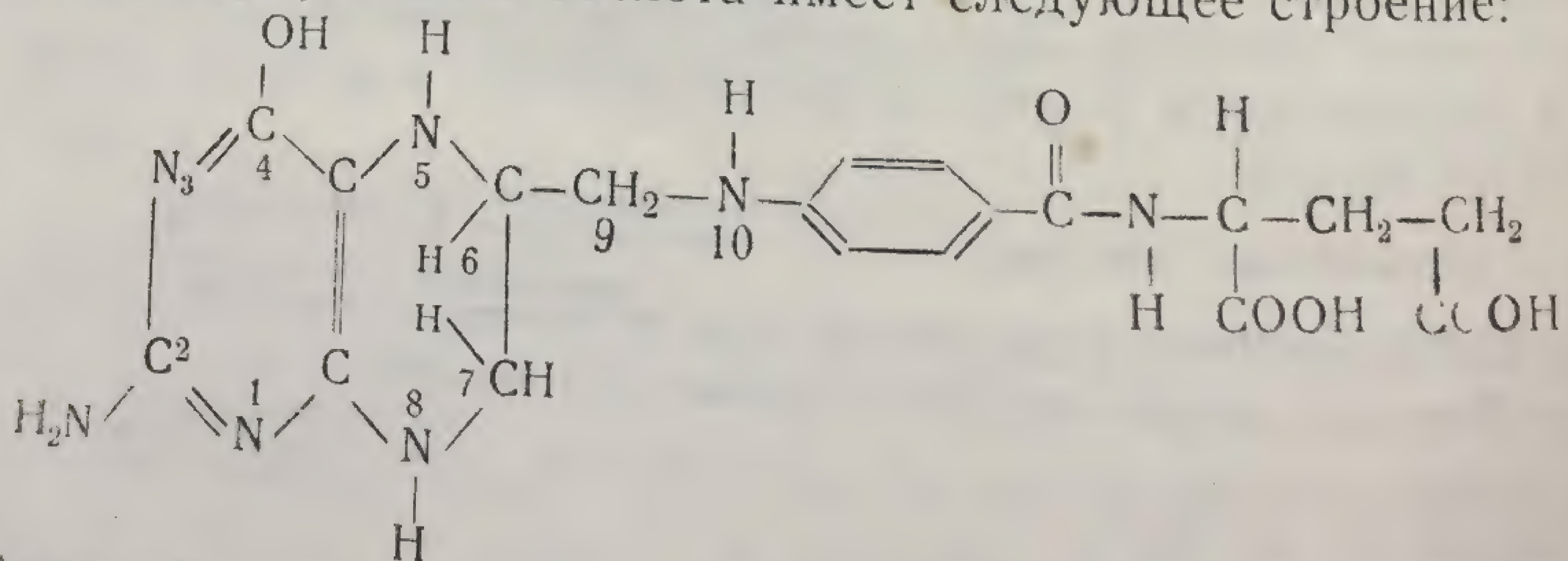
Описанный процесс протекает в ядрах различных клеток, в том числе и нейрональных.

В настоящее время ГАМК рассматривается как медиатор физиологического торможения в нервной системе. ГАМК тормозит биоэлектрическую активность не только головного мозга позвоночных, но и нервных цепочек и ганглиев беспозвоночных животных. Однако высокая концентрация этой аминокислоты в ткани мозга млекопитающих свидетельствует о том, что ее роль в нервной системе не ограничивается лишь медиаторной функцией.

### Глицин и пути его обмена

Глицин в нервной ткани, как и в других органах и тканях животного организма, может быть синтезирован из глюкозы и других субстратов. Кроме того, глицин может проникать в мозг из циркулирующей крови. Применение метода радиоактивной индикации позволило установить, что глицин участвует не только в биосинтезе белков, но и в других многочисленных биосинтетических процессах, таких как образование пуринов, порфиринов, креатина, этаноламина, холина, глутатиона и др.

Основной путь синтеза глицина de novo — образование его в нервной ткани из серина путем обратимой  $\text{N}^5$ ,  $\text{N}^{10}$ -метилентетрагидрофолат — тетрагидрофолат-зависимой трансформации при участии фермента серинтрансгидроксиметилазы (КФ 2.1.2.1). Тетрагидрофолиевая кислота имеет следующее строение:



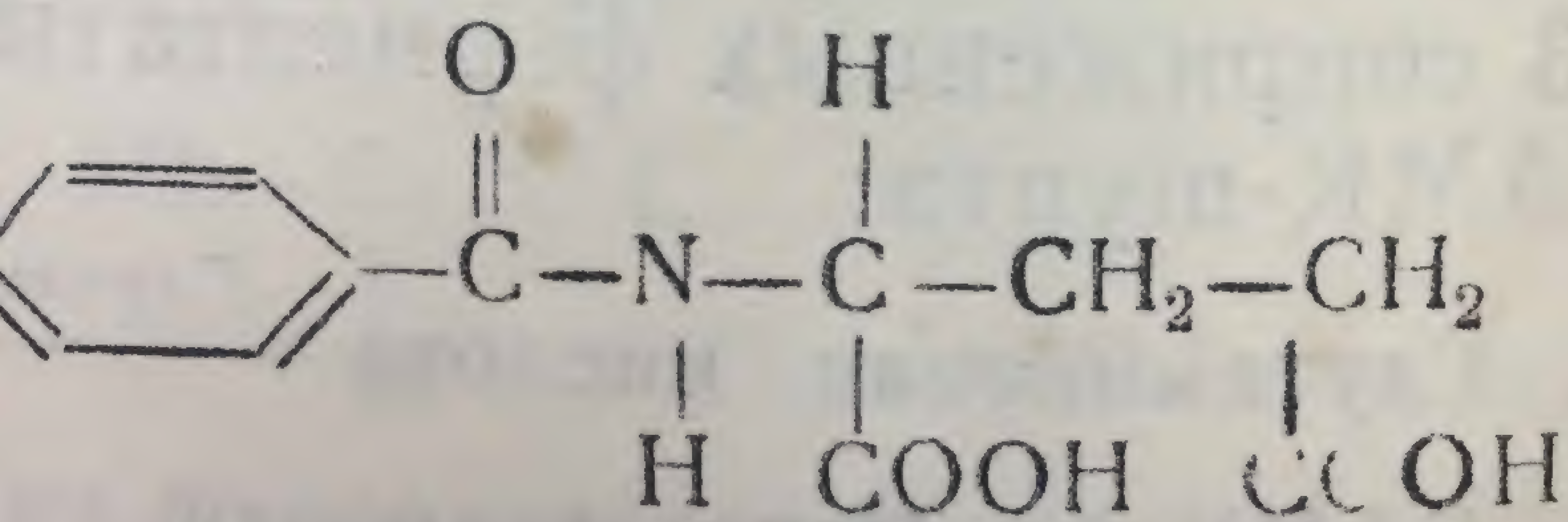
Атомы N-5 и N-10 принимают участие в переносе одноуглеродных групп. Реакция, катализируемая серингидроксиметилтрансферазой, протекает следующим образом:



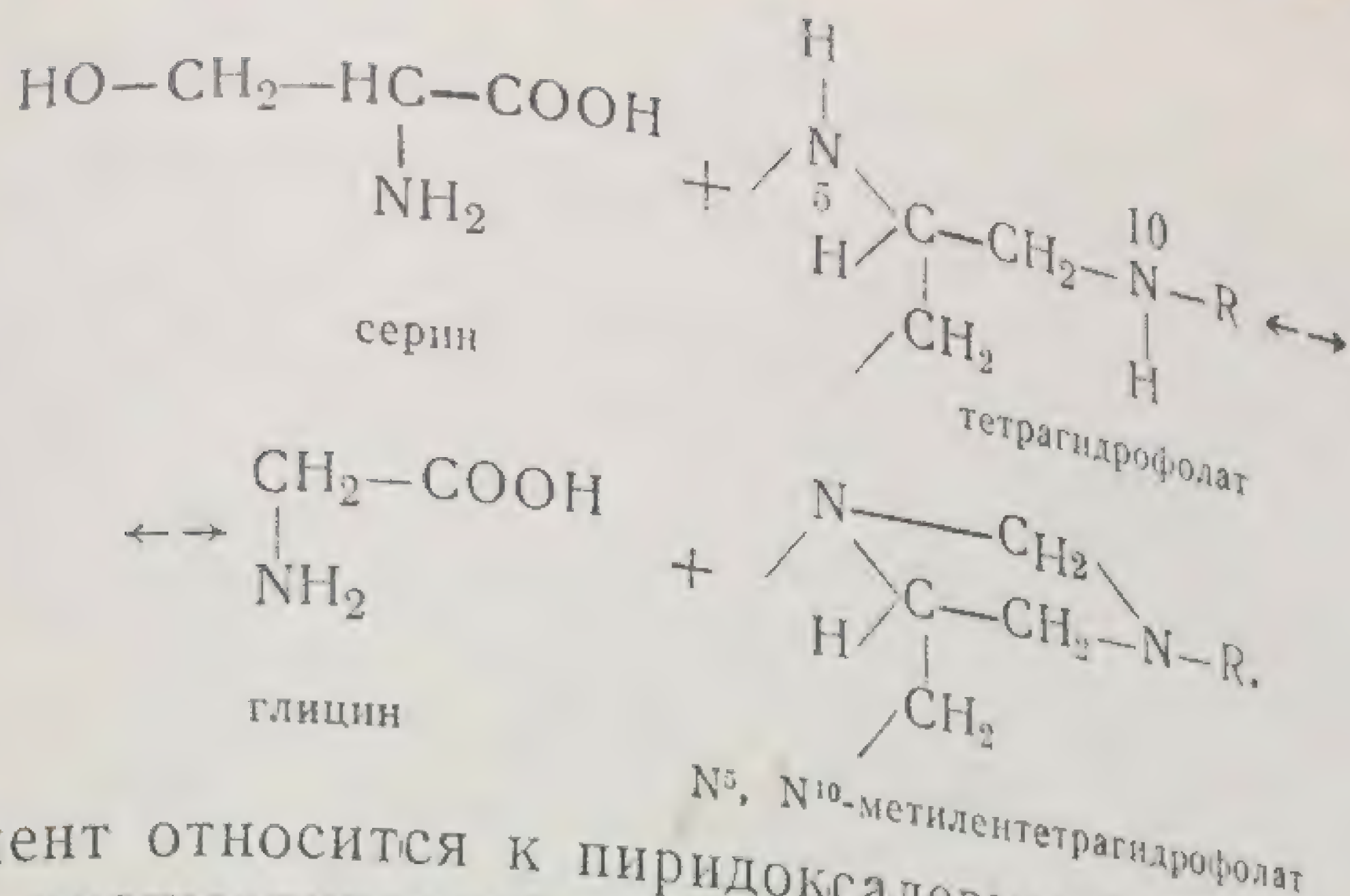




и в других органах и тканях  
 синтезирован из глюкозы и  
 глицин может проникать в мозг  
 изменение метода радиоактивной  
 что глицин участвует не толь-  
 других многочисленных биосин-  
 образование пуринов, порфи-  
 холина, глутатиона и др.  
 де novo — образование его  
 обратимой  $N^5$ ,  $N^{10}$ -метилентет-  
 ат-зависимой трансформации при  
 гидроксиметилазы (КФ 2.1.2.1).  
 имеет следующее строение:







Этот фермент относится к пиридоксальвым ферментам, при оптимальной энзиматической активности в нем содержится 6 молекул пиридоксальфосфата.

Другим источником синтеза глицина в нервной системе является глиоксиловая кислота, однако вклад ее в синтез глицин-кислоты в мозгу низок. Реакция трансаминирования между глиоксиловой кислотой и глутаминовой (или глутамином) обнаружена в головном мозгу (рис. 31). Эта реакция катализируется

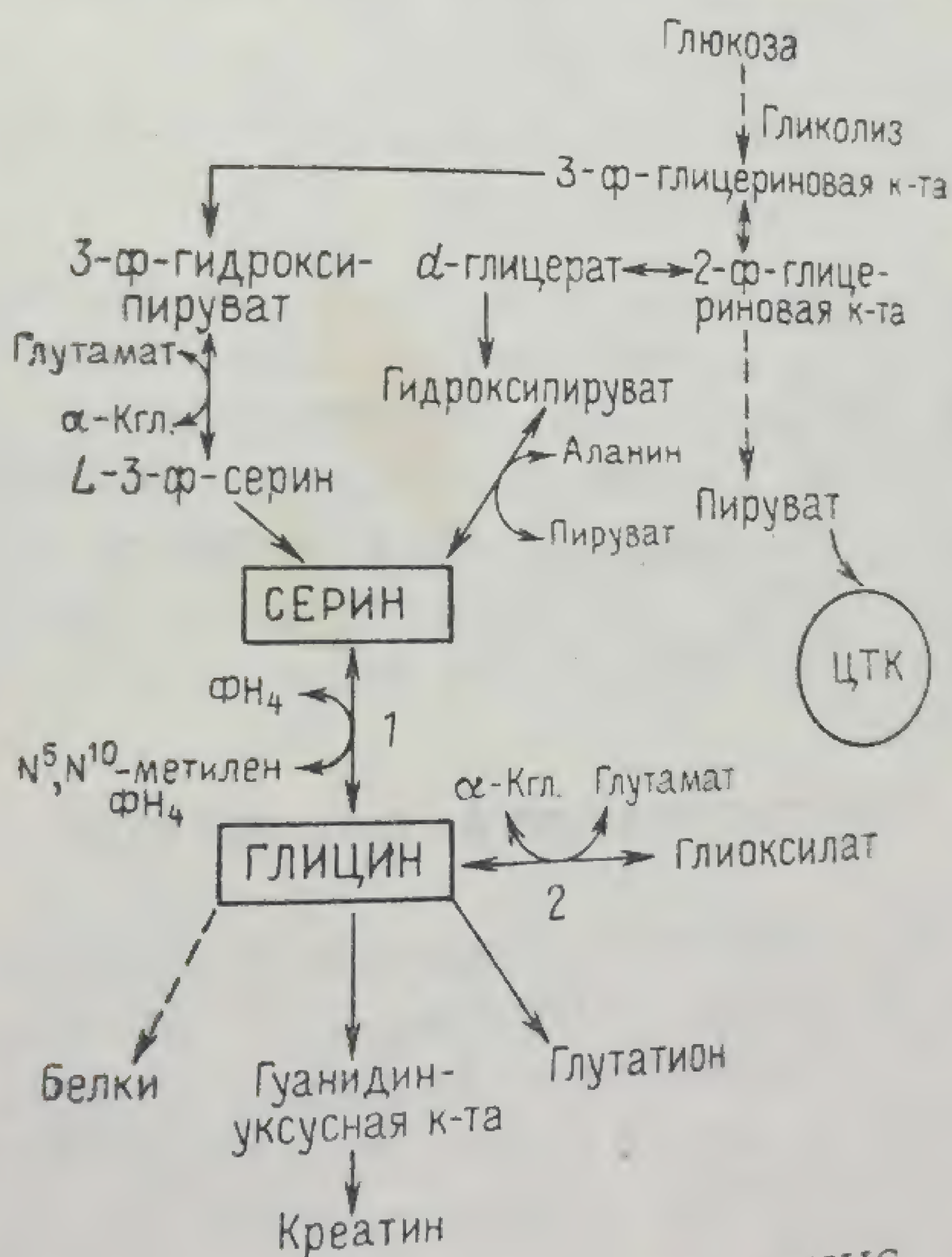
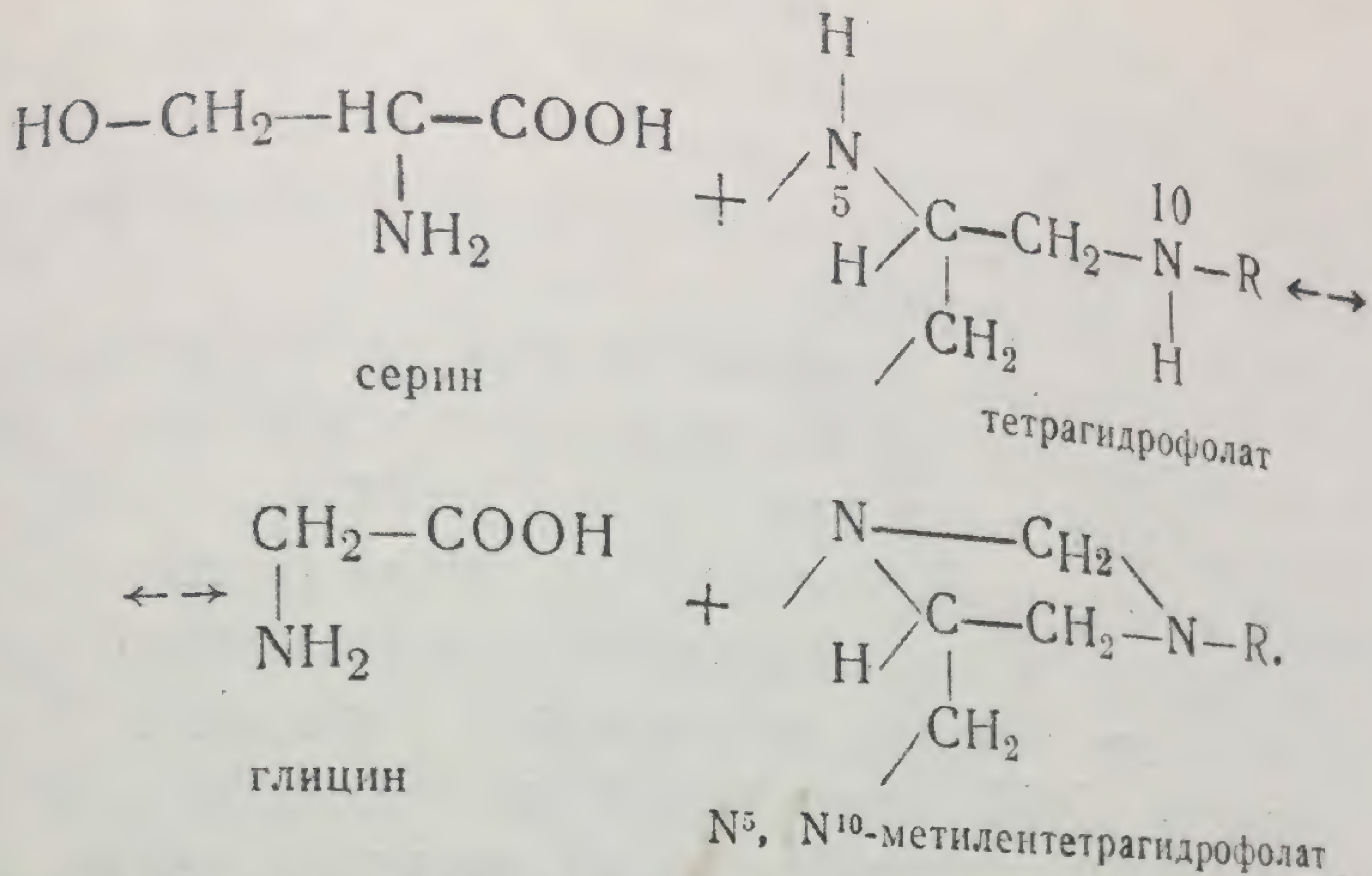


Рис. 31. Реакции глицина в ЦНС  
1 — серингидроксиметилтрансфераза; 2 — глицинамино-трансфераза.

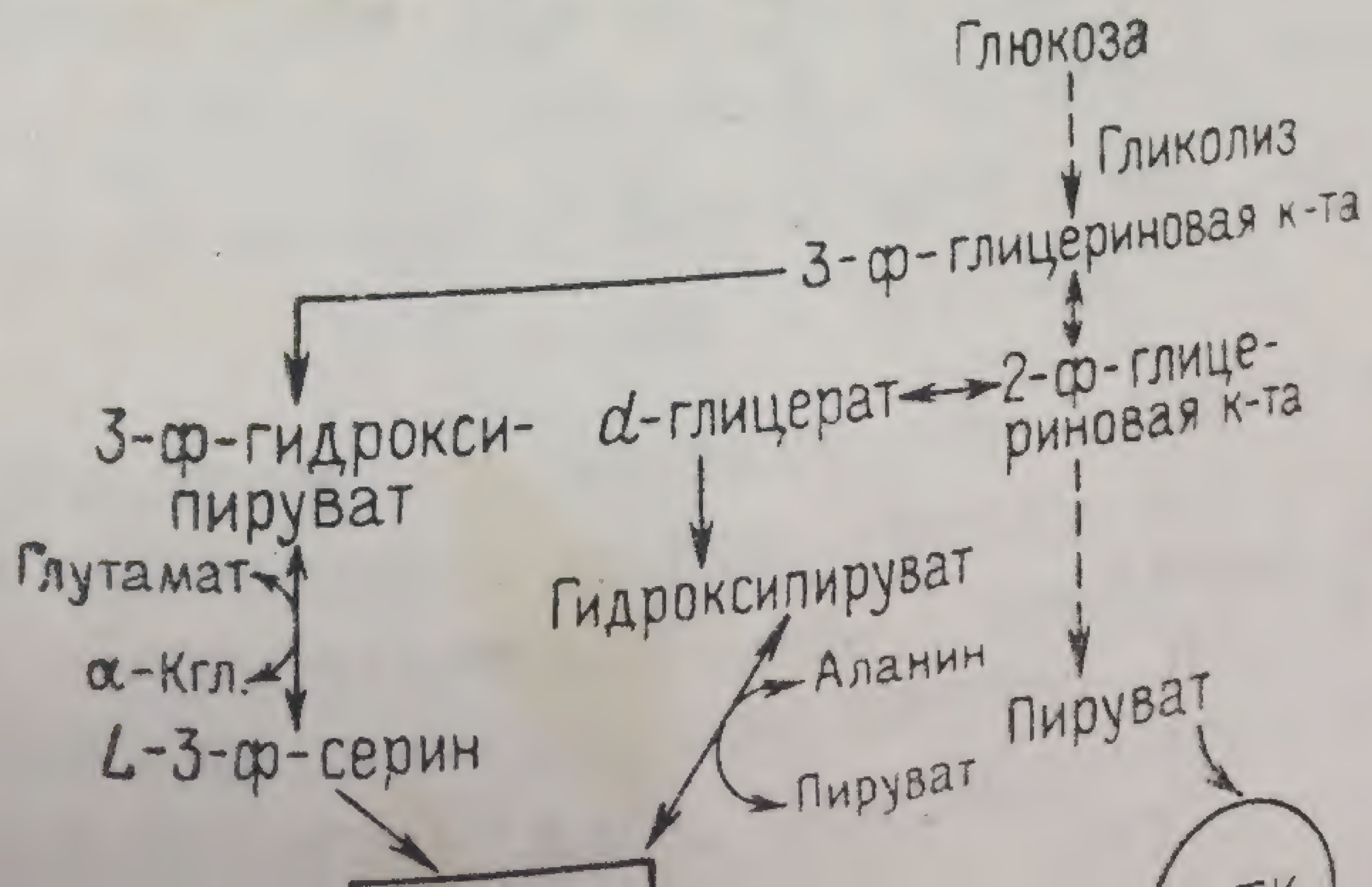
глицинаминотрансферазой (КФ 2.6.1.4) с предпочтительным использованием глутамата в качестве донора аминогрупп. Однако, как указывалось, главным источником для синтеза





Этот фермент относится к пиридоксальвым ферментам, при оптимальной энзиматической активности в нем содержится 6 молекул пиридоксальфосфата.

Другим источником синтеза глицина в нервной системе является глиоксиловая кислота, однако вклад ее в синтез глицина *in vivo* не может быть значительным, так как уровень этой кислоты в мозгу низок. Реакция трансаминирования между глиоксиловой кислотой и глутаминовой (или глутамином) обнаружена в головном мозгу (рис. 31). Эта реакция катализируется





... в синтез гл...  
 ... in vivo не может быть значительным, так как уровень...  
 ... в мозгу низок. Реакция трансаминирования между...  
 ... кислотой и глутаминовой (или глутамином) обн...  
 ... в головном мозгу (рис. 31). Эта реакция катализиру...

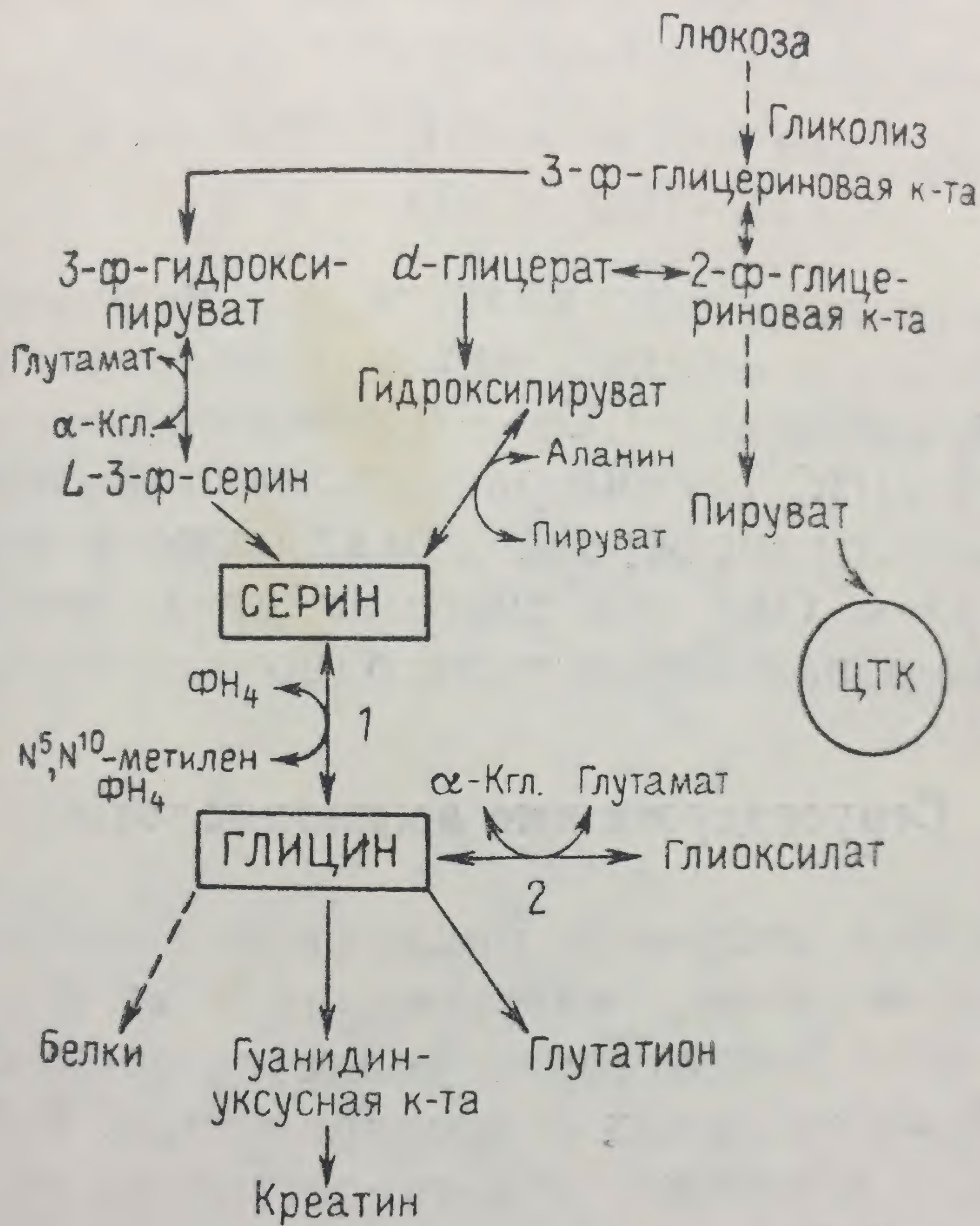
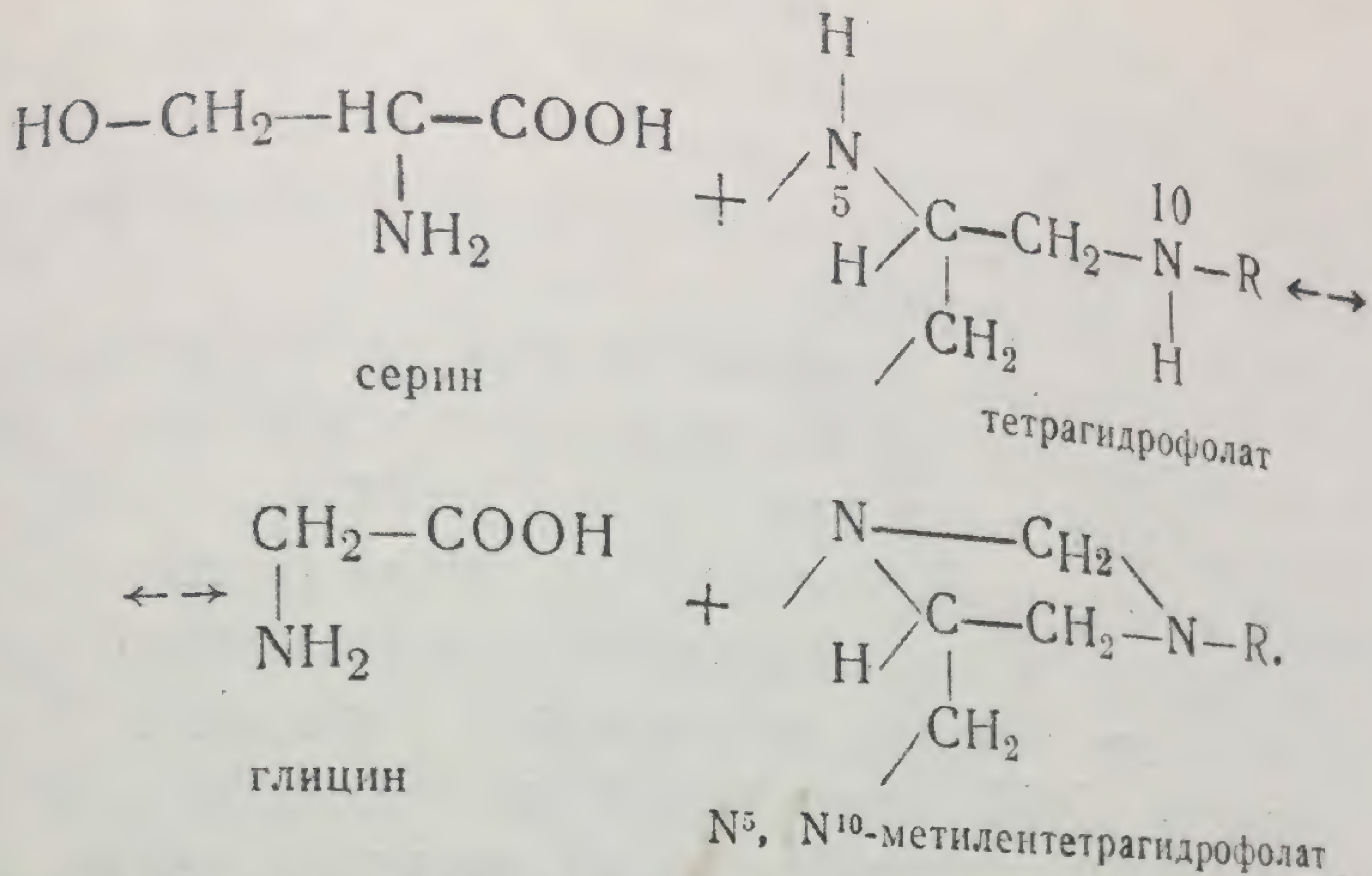


Рис. 31. Реакции глицина в ЦНС

1 — серингидроксиметилтрансфераза; 2 — глицинамино-  
 трансфераза.

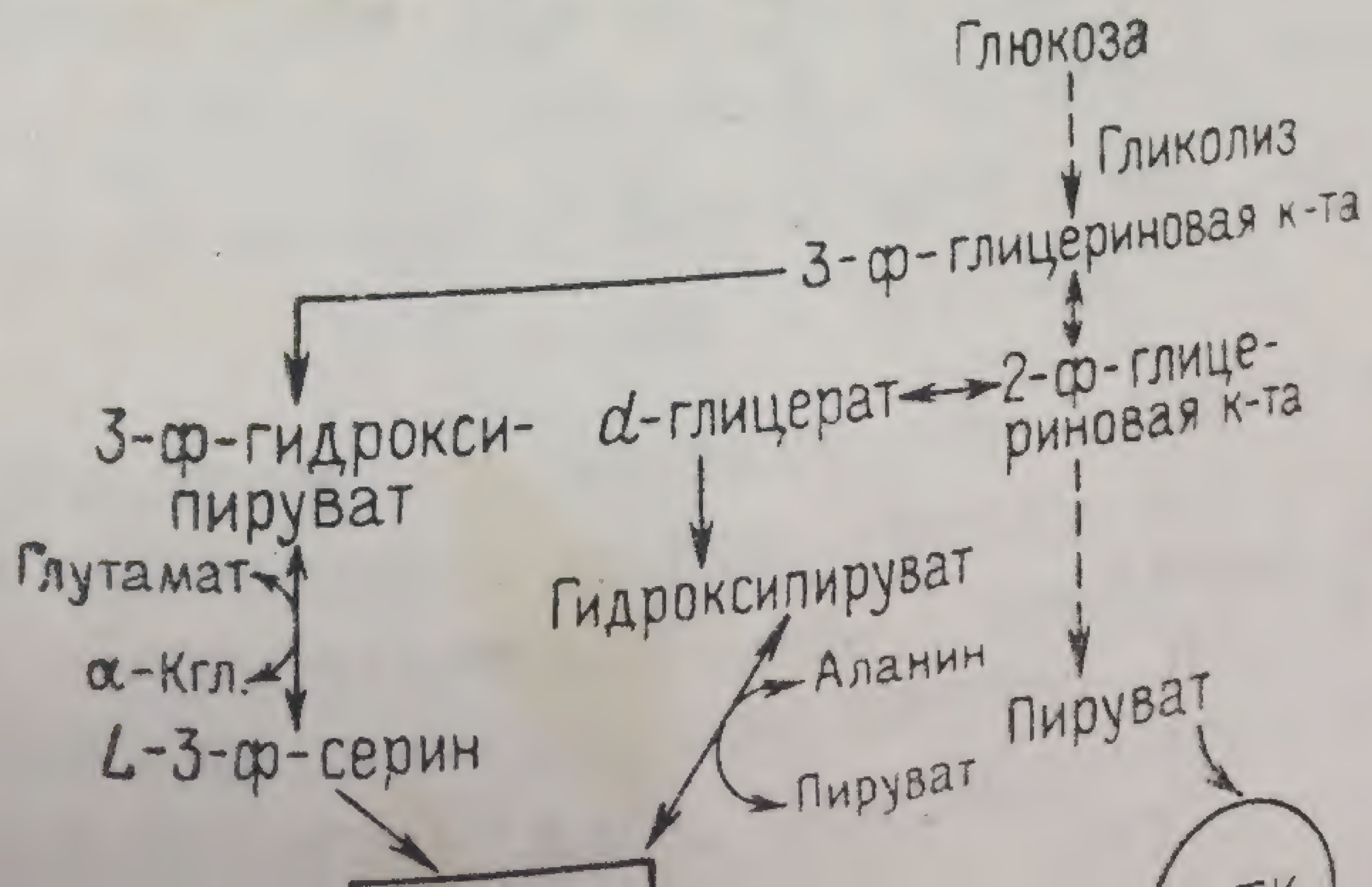
...аминотрансферазой (КФ 2.6.1.4) с предпочтительн...  
 ... использованием глутамата в качестве донора аминогр...  
 ... ко, как указывалось, главным источником для син...





Этот фермент относится к пиридоксальвым ферментам, при оптимальной энзиматической активности в нем содержится 6 молекул пиридоксальфосфата.

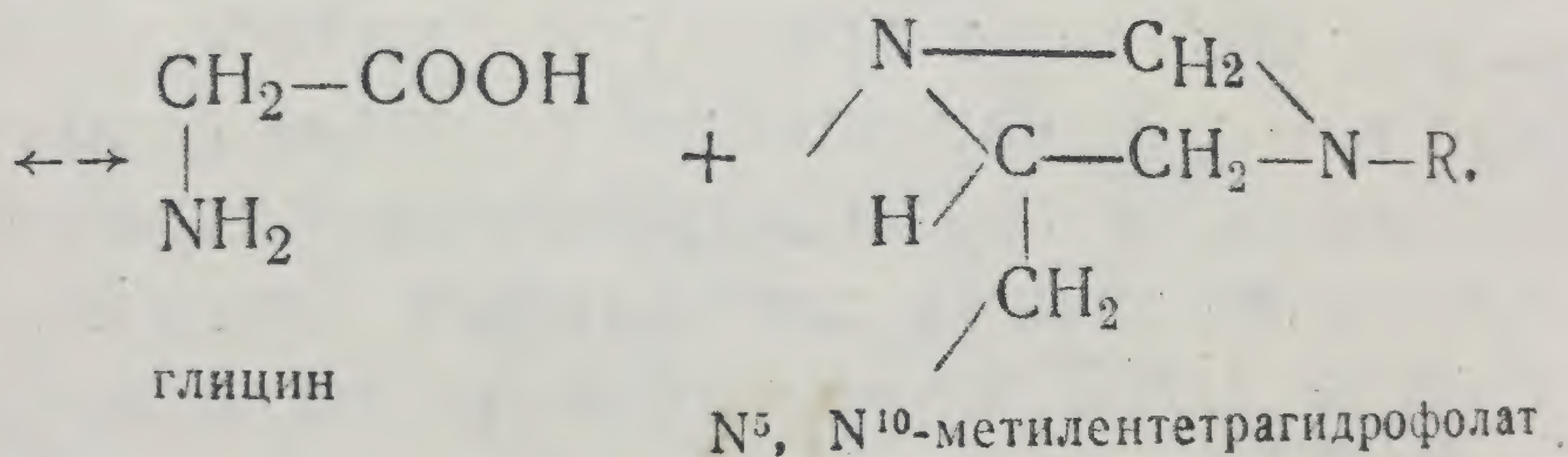
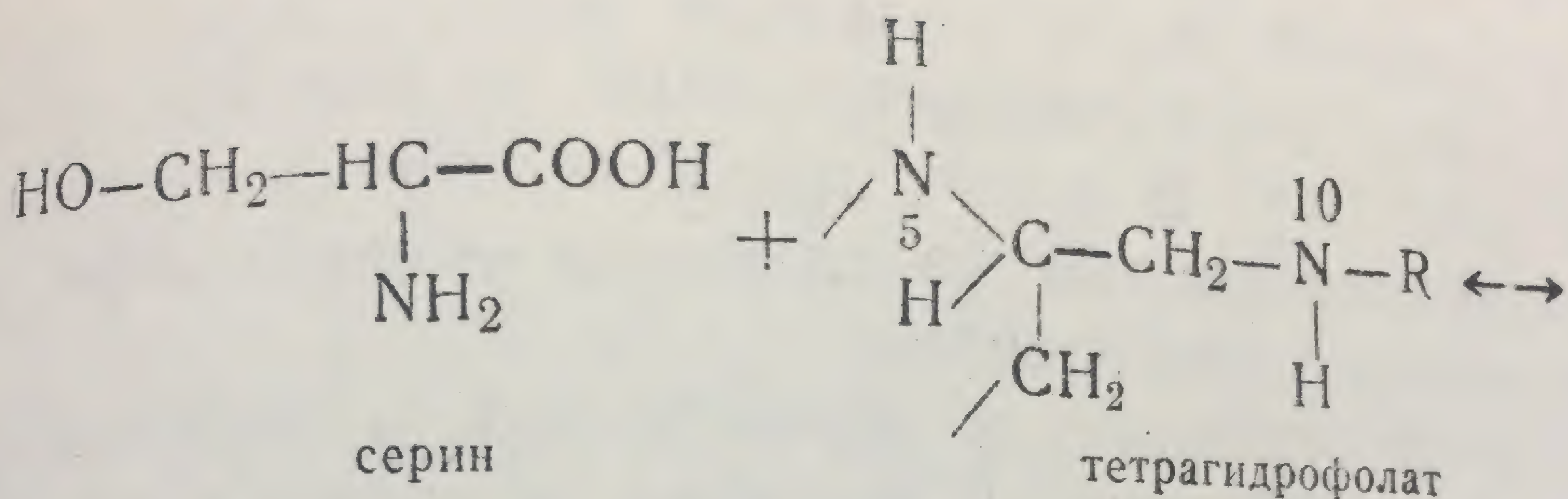
Другим источником синтеза глицина в нервной системе является глиоксиловая кислота, однако вклад ее в синтез глицина *in vivo* не может быть значительным, так как уровень этой кислоты в мозгу низок. Реакция трансаминирования между глиоксиловой кислотой и глутаминовой (или глутамином) обнаружена в головном мозгу (рис. 31). Эта реакция катализируется











фермент относится к пиридоксальным ферментам, при которой энзиматической активности в нем содержится пиридоксальфосфат.

Основным источником синтеза глицина в нервной системе является глиоксиловая кислота, однако вклад ее в синтез глицина не может быть значительным, так как уровень глицина в мозгу низок. Реакция трансаминирования между глиоксиловой кислотой и глутаминовой (или глутамином) основана на головном мозгу (рис. 31). Эта реакция катализируется

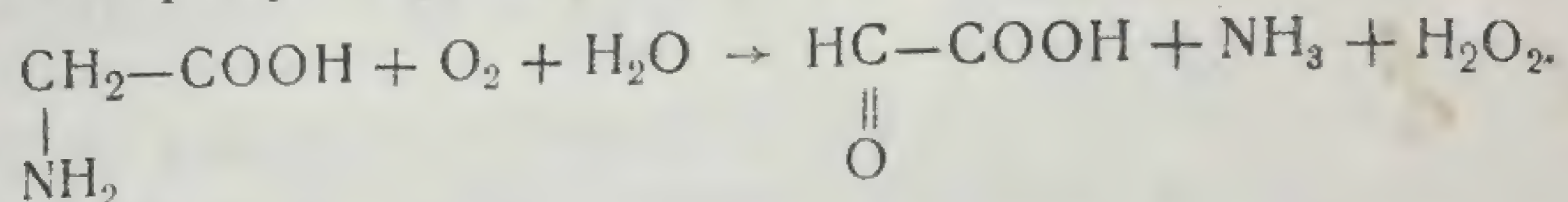
Глюкоза



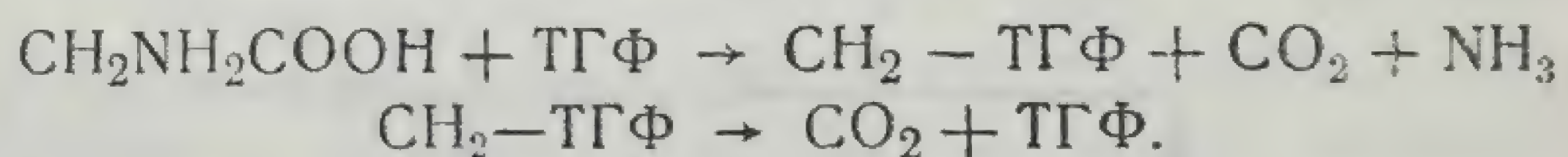
глицина в нервной ткани является серин. Серин образуется из глюкозы через фосфорилированный и нефосфорилированный путь (см. рис. 31). В мозгу преобладает фосфорилированный путь образования серина из глюкозы — через 3-фосфоглицериновую кислоту и 3-фосфосерин.

Катаболизму глицина в нервной ткани посвящено большое количество исследований. В настоящее время доказано, что существует по меньшей мере три пути катаболизма глицина в ЦНС. Прежде всего, превращение серин ↔ глицин легко обратимо в ткани мозга, и серингидроксиметилтрансфераза может выступать в качестве энзима деградации глицина.

Кроме того, в ЦНС представлены оксидазы аминокислот (КФ 1.4.3.2, 1.4.3.3.), которые могут использовать в качестве субстрата наряду с другими аминокислотами глицин:



В настоящее время убедительно показано, что в головном мозгу присутствует третья система распада глицина, предложенная ранее для других тканей животного организма. Это расщепление глицина на одноуглеродные фрагменты, в котором принимает участие сложная ферментная система, состоящая из 4-х различных белков, протекает по схеме



Таким образом, глицин распадается на метилентетрагидрофолат, углекислый газ и аммиак, затем происходит окисление метилен-ТГФ с образованием  $\text{CO}_2$  — окончательного продукта распада глицина. В ЦНС глицин-расщепляющая система, а также серингидроксиметилтрансфераза локализируются преимущественно в митохондриях. Обе эти системы представляют собой основной механизм образования пула одноуглеродных фрагментов в головном мозгу.

## Серусодержащие аминокислоты

Цистатионин является продуктом конденсации гомоцистеина и серина, фермент, участвующий в этом процессе, — цистатионинсинтетаза. Цистатионин является промежуточным продуктом в метаболизме таких серусодержащих аминокислот, как метионин, цистеин и таурин, что представлено на схеме (Dunn, Bondy, 1974) (см. с. 195).

У человека высокие концентрации цистатионина обнаружены в мозгу и гораздо меньшие в других тканях. Интересно отметить, что мозг человека содержит значительно более высокие концентрации цистатионина, чем мозг животных. Концентрация цистатионина в мозгу человека повышается в процессе развития,

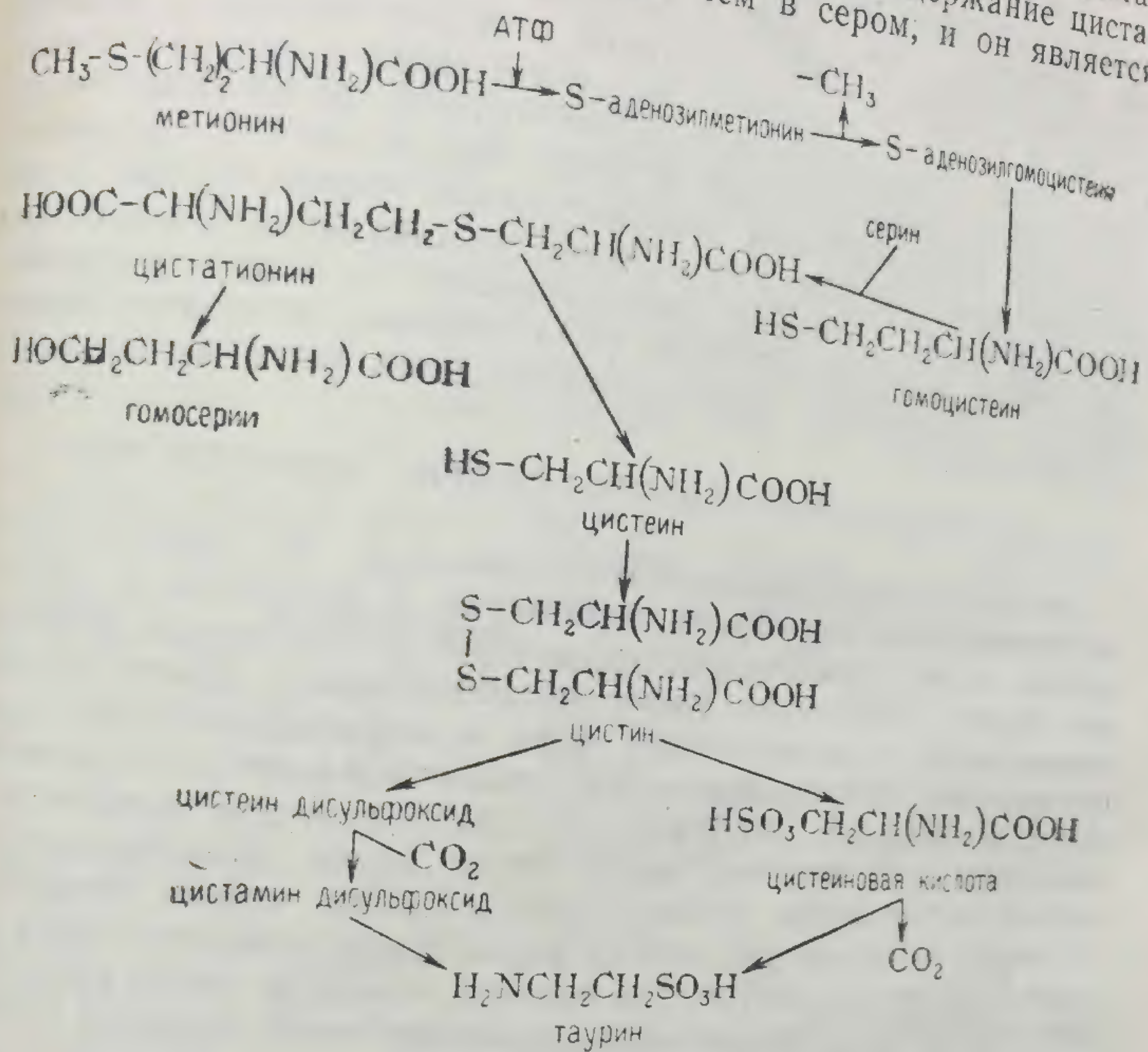
в мозгу  
тионина  
заболе  
цистати  
торых у  
ниями с  
тионина  
тионина

 $\text{CH}_3\text{S}-$  $\text{HOOC}-$  $\text{HOCH}_2$ 

проме-  
теза т  
ридов.  
Та  
стеме  
центра  
ранни  
первы  
ция к  
взросл  
0,8. Б  
амино  
туре,  
13\*



в мозгу крыс, наоборот, снижается. Биологическая роль цистатионина полностью не выяснена. При некоторых психических заболеваниях, а также при действии нейротоксинов содержание цистатионина в мозгу резко возрастает. В то же время у некоторых умственно отсталых больных с врожденными нарушениями обмена серусодержащих аминокислот содержание цистатионина в мозгу было чрезвычайно низким. Содержание цистатионина выше в белом веществе, чем в сером, и он является

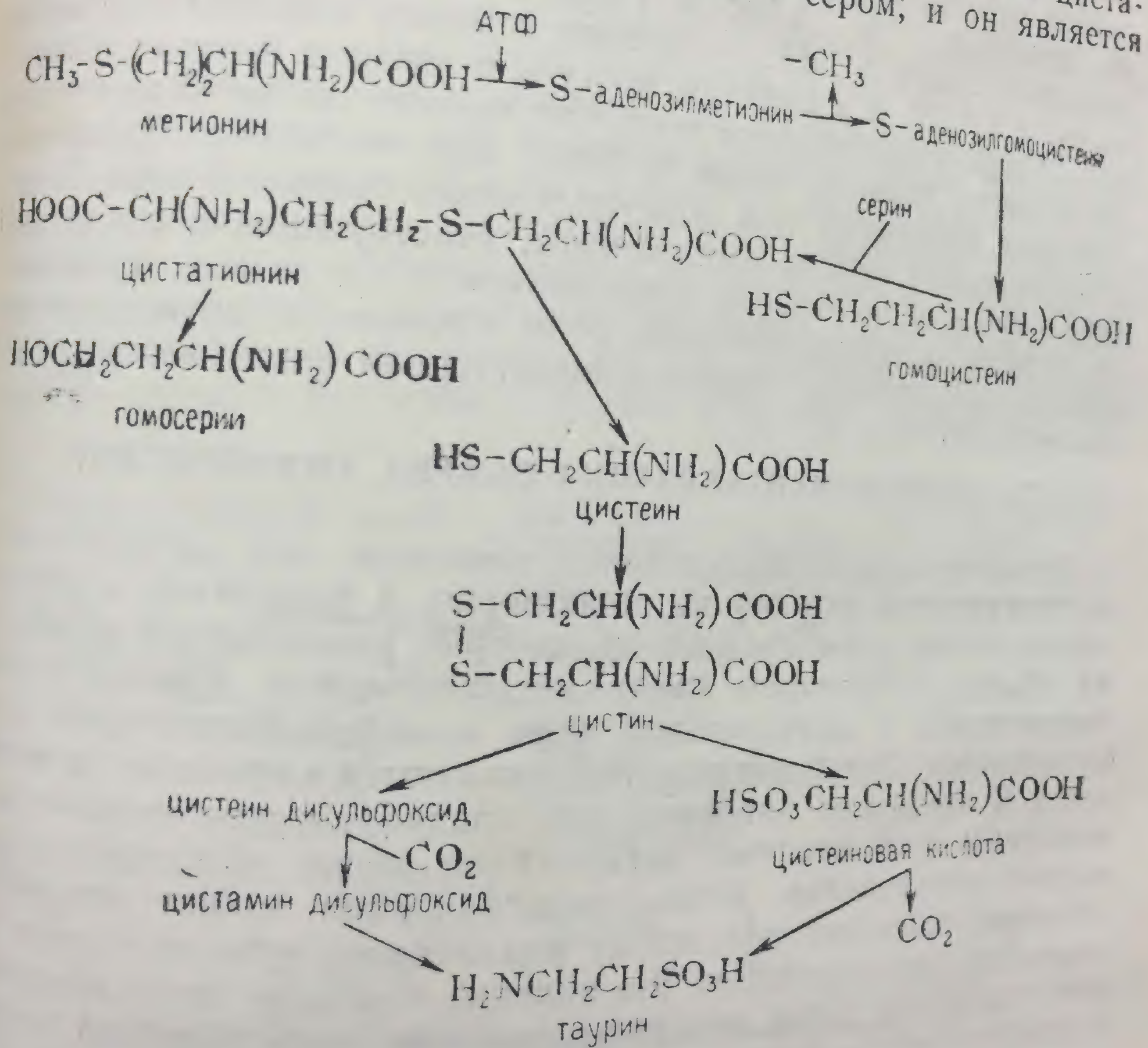


промежуточным метаболитом в обмене серы, важным для синтеза таурина, сульфатидов и сульфатированных мукополисахаридов.

Таурин обнаружен в высоких концентрациях в нервной системе беспозвоночных и позвоночных животных. Высокие концентрации таурина обнаружены в мозгу эмбрионов, а также в ранний период постэмбрионального развития. Так, у мышей в первые дни жизни концентрация таурина выше, чем концентрация компонентов системы глутаминовой кислоты, в 3 раза, у взрослых животных величина этого отношения уменьшается до 0,8. Биологическое значение замены таурина на глутамат в пуле аминокислот мозга в процессе развития обсуждается в литературе, хотя еще остается неясным. Роль таурина в головном



в мозгу крыс, наоборот, снижается. Биологическая роль цистатионина полностью не выяснена. При некоторых психических заболеваниях, а также при действии нейротоксинов содержание цистатионина в мозгу резко возрастает. В то же время у некоторых умственно отсталых больных с врожденными нарушениями обмена серусодержащих аминокислот содержание цистатионина в мозгу было чрезвычайно низким. Содержание цистатионина выше в белом веществе, чем в сером, и он является



промежуточным метаболитом в обмене серы, важным для синтеза таурина, сульфатидов и сульфатированных мукополисахаридов. Концентрация в нервной ткани высокие кон-



мозгу также еще окончательно не ясна. В последние годы появились доказательства участия этой аминокислоты в синаптической трансмиссии.

### 7.3. НЕЙРОТРАНСМИТТЕРНАЯ РОЛЬ АМИНОКИСЛОТ

Участие аминокислот в синаптической передаче привлекает особое внимание исследователей. В настоящее время убедительно доказано, что ГАМК и глицин являются ингибиторными трансмитами в ЦНС — глицин главным образом в спинном мозгу, а ГАМК и в спинном мозгу и в высших центрах. Появилось много доказательств того, что таурин также является ингибиторным транмитером в ЦНС. Признано, что глутамат и аспартат действуют как возбуждающие транмиттеры. В настоящее время список аминокислот, участвующих в синаптической передаче, постоянно увеличивается; например, появляются данные о транмиттерной роли пролина и других аминокислот. Подробнее нейротрансмиттерная роль аминокислот рассмотрена в гл. 8.

### 7.4. КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИЯ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ

Многочисленные исследования показали, что аминокислоты распространены в мозгу не равномерно, а находятся в определенных пулах (компартаментах), которые различаются скоростями оборота. Наличием таких метаболических компарментов определяется в значительной мере полифункциональная роль аминокислот. Эти компартменты появляются в процессе развития мозга и отражают тот факт, что плазматические мембраны и мембраны субклеточных органелл не легко проницаемы для многих метаболитов. Компартаментализация может встречаться между клетками или между различными субклеточными органеллами внутри клетки. Это явление наиболее четко представлено в нервной ткани, которая характеризуется большой гетерогенностью составляющих ее клеток. Кроме того, большая протяженность нервных клеток часто затрудняет возможность смешивания метаболитов, создавая дополнительные условия для компартаментализации. Так как сходные типы клеток, вероятно, имеют сходные метаболические свойства, биохимические компартменты могут суммироваться из многих тысяч клеток, т. е. состоять из очень многих микрокомпарментов.

Впервые явление компартаментализации было открыто в лаборатории Вэлша в конце 50-х — начале 60-х годов. Наблюдения, ведущие к концепции о существовании метаболических компартментов, основаны на том, что при определенных условиях в опытах с использованием меченых предшественников специфическая активность продукта, образованного в короткий промежуток времени, превышает специфическую активность предшественника иногда в несколько раз. Эти наблюдения позволяют



...следние годы по-  
...аминокислоты в синапти-  
**АМИНОКИСЛОТ**  
...передаче привлекает  
...ящее время убедитель-  
...ются ингибиторными  
...образом в спинном  
...ших центрах. Появи-  
...также является ин-  
...но, что глутамат и  
...трансммиттеры. В на-  
...вующих в синаптиче-  
...например, появляют-  
...на и других аминио-  
...я роль аминокислот

**АМИНОКИСЛОТ**  
...что аминокислоты  
...находятся в опреде-  
...зличаются скоростя-  
...ских компартментов  
...функциональная роль  
...в процессе развития  
...ческие мембраны и  
...о проницаемы для  
...может встречать-  
...субклеточными ор-  
...лее четко представ-  
...ся большой гетеро-  
...того, большая про-  
...возможность сме-  
...ные условия для  
...клеток, вероятно,  
...охимические ком-  
...тысяч клеток, т. е.

...ило открыто в ла-  
...годов. Наблюда-  
...таболических ком-  
...енных условиях в  
...енников специфиче-  
...короткий проме-  
...тивность предше-  
...дения позволяют

сделать неизбежное заключение о том, что метаболизм имеет место в малом, активном пуле, который разбавляется большим, неактивным количеством предшественника. Большинство этих экспериментов проведено с системой глутамат — глутамин. При введении радиоактивной глюкозы, лактата или глицерина специфическая активность глутаминовой кислоты превышала специфическую активность глутамина. В том случае, если использовали радиоактивный ацетат, пропионат, бутират или лейцин, специфическая активность глутамина, наоборот, была выше, чем глутамата. Это исследование позволило заключить, что глюкогенные субстраты метаболизируются до аминокислот в компартментах, отличных от тех, в которых обмениваются кетогенные субстраты. В дальнейшем кинетическими исследованиями с радиоактивными предшественниками было показано наличие в мозгу различных метаболических компартментов цикла трикарбоновых кислот и аминокислот, связанных с циклом. Большинство исследований последних лет ограничивает число компартментов двумя — большим и малым (рис. 32), причем эти глав-

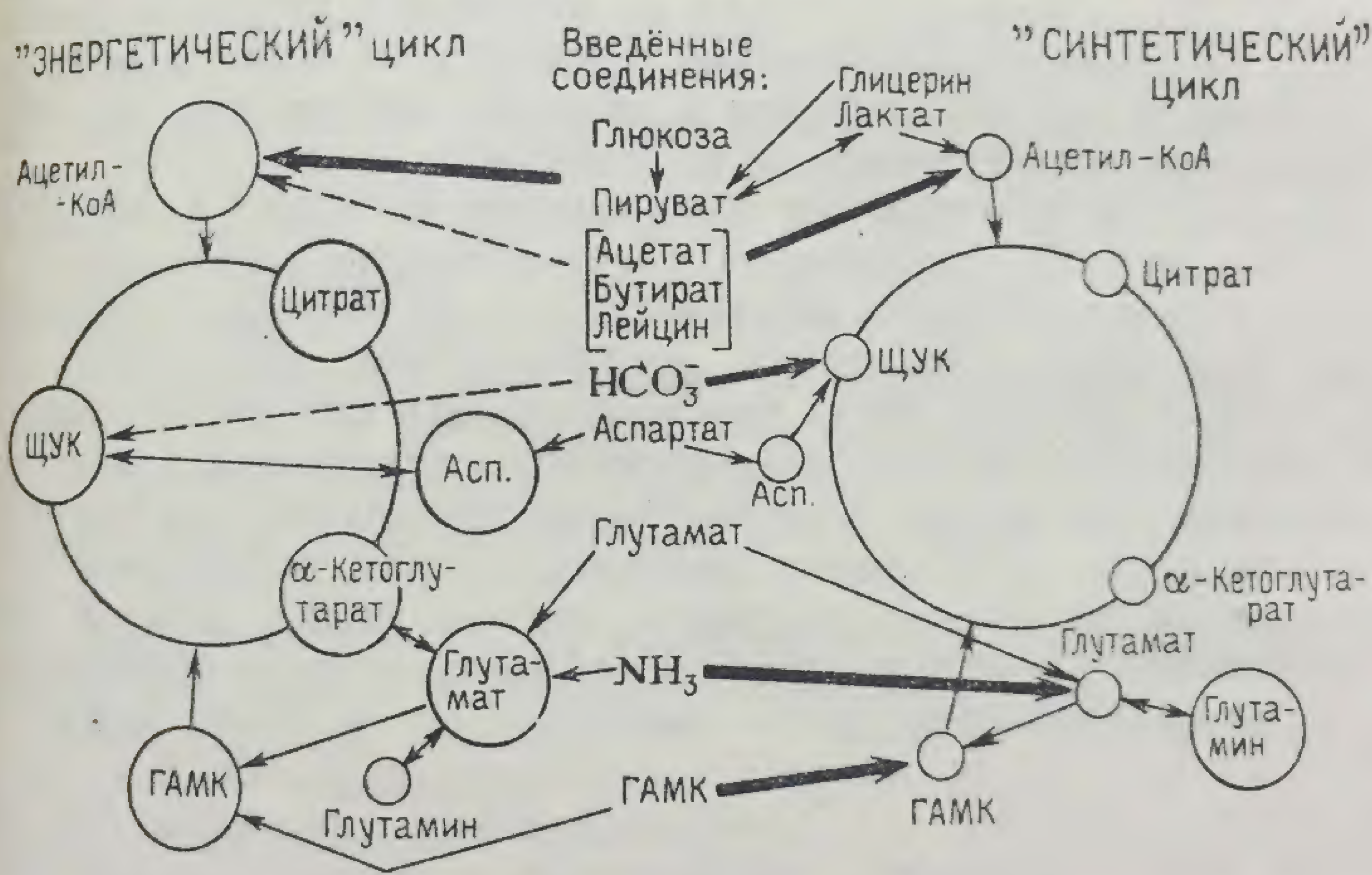


Рис. 32. Схематическое представление о компартиментализации обмена аминокислот в мозгу (Berl, Clarke, 1969).

ные компартменты, очевидно, являются суммой большого числа компартментов с более или менее сходными метаболическими свойствами.

Большой компартмент включает в себя относительно большие пулы промежуточных соединений, которые быстро обмениваются с большим пулом глутамата и малым пулом глутамина. Несмотря на то, что глюкоза с успехом используется во всех компартментах, в большой компартмент включается до



введение... лактата или глутамин. При...  
 специфическая активность глутаминовой кислоты превышала спе-  
 цифическую активность глутамина. В том случае, если исполь-  
 зовали радиоактивный ацетат, пропионат, бутират или лейцин,  
 специфическая активность глутамина, наоборот, была выше, чем  
 глутамата. Это исследование позволило заключить, что глюко-  
 генные субстраты метаболизируют до аминокислот в компарт-  
 ментах, отличных от тех, в которых обмениваются кетогенные  
 субстраты. В дальнейшем кинетическими исследованиями с ра-  
 диоактивными предшественниками было показано наличие в  
 мозгу различных метаболических компартментов цикла трикар-  
 боновых кислот и аминокислот, связанных с циклом. Большин-  
 ство исследований последних лет ограничивает число компарт-  
 ментов двумя — большим и малым (рис. 32), причем эти глав-

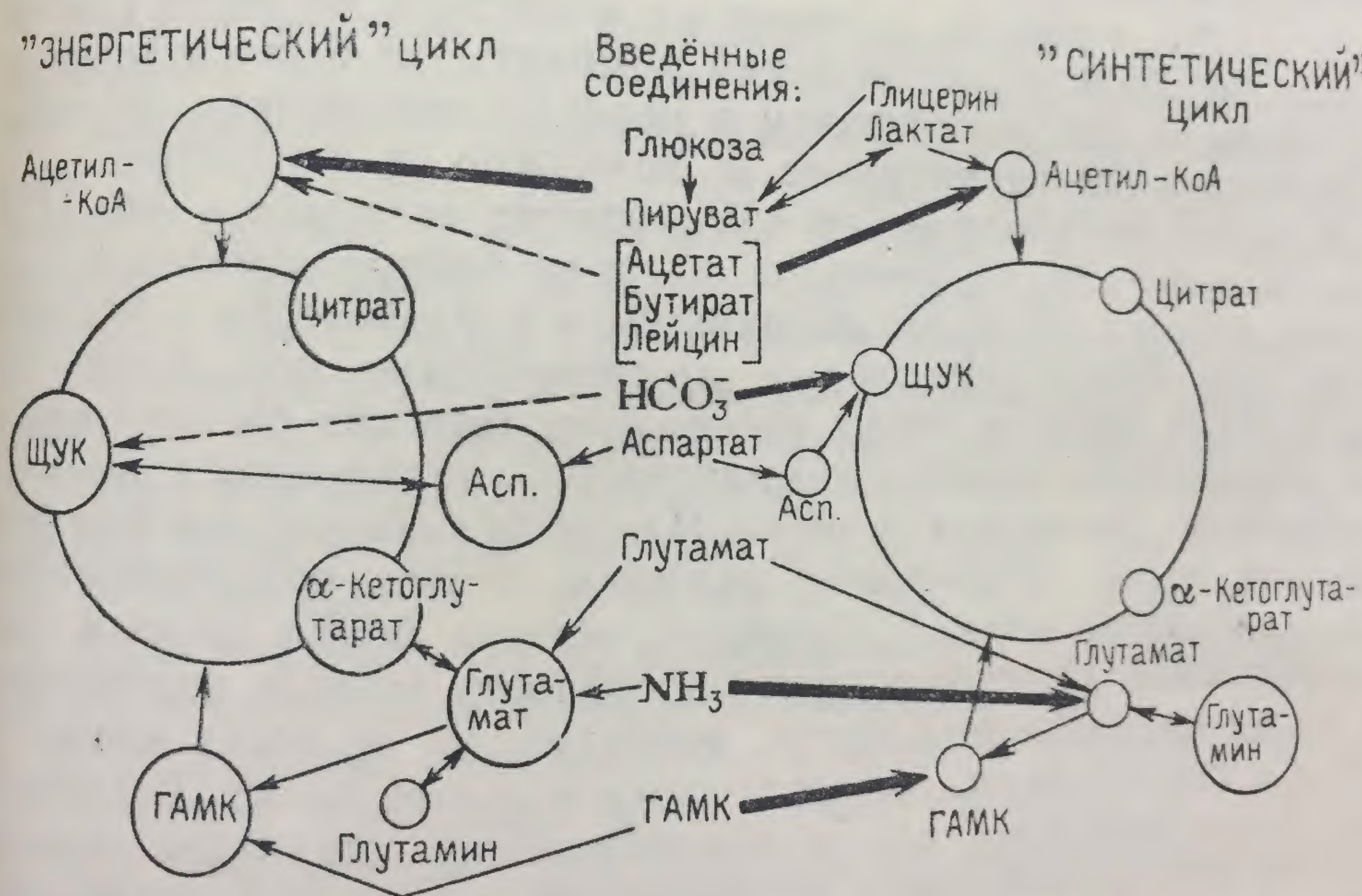


Рис. 32. Схематическое представление о компартментализации обмена аминокислот в мозгу (Berl, Clarke, 1969).

ные компартменты, очевидно, являются суммой большого числа компартментов с более или менее сходными метаболическими свойствами. Большая часть включает в себя относительно быстро об-



90% гликолитического потока и большая часть общего тока через цикл трикарбоновых кислот. Глюкогенные предшественники метаболируют преимущественно в этом компартменте, и глюкоза может рассматриваться как предпочтительный метаболит большого компартмента. Этот компартмент содержит основную часть общего глутамата и аспартата, но скорость синтеза глутамина в нем относительно низка. Большой компартмент характеризуется относительно высокой скоростью синтеза белка. Полагают, что этот компартмент связан главным образом с нейрональными структурами и участвует в энергетических процессах («энергетический цикл»). Предположение о нейрональной локализации большого компартмента подтверждается исследованиями на животных с различным тиреоидным статусом. Так, неонатальная тиреоидэктомия выливается в недоразвитие нейрональных процессов, одновременно наблюдается недоразвитие большого метаболического компартмента. Напротив, обработка тиреоидными гормонами ускоряет созревание мозга и развитие метаболической компартментализации. В дальнейшем на основании кинетических исследований метаболизма меченых глутамата, ГАМК, глюкозы, а также на основании изучения синтеза белков большой метаболический компартмент был разделен на два: один из них локализован в нервных окончаниях, другой — в нейрональном перикарионе и, возможно, в дендритах.

Малый метаболический компартмент включает в себя ЦТК с малыми пулами компонентов, которые быстро обмениваются с малым пулом глутамата, находящимся в равновесии с большим пулом глутамина. Некоторые аминокислоты, короткоцепочечные жирные кислоты могут рассматриваться как предпочтительные метаболиты малого компартмента, являющегося главным источником глутамина в ткани. Малый пул служит для биосинтетических целей: устранение аммиака, синтез нейромедиаторов («синтетический цикл»). Скорость синтеза белка низка в этом компартменте. Окислительная способность малого компартмента также сравнительно низка, вероятно, он не богат митохондриями и структурами, вовлекаемыми в синтез белка. В дальнейшем было показано, что морфологическая характеристика астроглии (малая плотность митохондрий и рибосом) находится в соответствии с биохимическими свойствами малого метаболического компартмента. Специфический ферментативный состав глиальных клеток также подтверждает вышесказанное.

Таким образом, в настоящее время главные морфологические структурные образования головного мозга связывают с тремя компартментами: компартмент I — глиальные клетки, компартмент II — нервные окончания, дендриты. Эксперименты с мечеными предшественниками указывают на два функциональных компартмента: малый, идентичный компартменту I, и большой, соответствующий сумме II и III. Коммуникации между



компартментами осуществляются через транспорт глутаминна и ГАМК, а также путем аксонального тока белков из нейронального перикариона к нервным окончаниям.

Недавние исследования поднимают вопрос о том, все ли нервные клетки во всех частях мозга связаны с большим метаболическим компартментом. При уменьшении количества малых нейронов (микронейронов) в мозжечке (облучение в течение первых 9 дней жизни) функционирование малого метаболического компартмента ослаблено. Показано, что микронейроны имеют метаболизм, отличный от клеток Пуркинье и других больших нейронов. Раскрытие механизмов функционирования различных районов и клеток мозга, возможно, приведет к видоизменению теории метаболической компартментализации и к демонстрации дальнейшей компартментализации, связанной с типами клеток, функционирующих специфическим образом. Значение метаболических компартментов состоит в пространственном разделении биосинтетических процессов от метаболических путей, которые должны строго контролироваться энергетическими нуждами.

Помимо нейронально-глиального транспорта аминокислот в последние годы установлена возможность перемещения свободных аминокислот от проксимального к дистальному концу нервного волокна и оказывается в мышце нервно-мышечного препарата. Движение свободных аминокислот внутри аксона находится еще в стадии начального изучения, однако известно, что они ассоциируются с белковыми компонентами аксоплазматического тока. В частности, известны быстро передвигающиеся компоненты аксоплазматического тока — со скоростью до нескольких сотен миллиметров в день и медленно передвигающиеся — со скоростью от 1 до 30 мм в день. Для лейцина, например, было показано, что он ассоциируется с быстро передвигающимися компонентами аксоплазматического тока.

Таким образом, аминокислоты в нервной ткани находятся в динамическом состоянии, и активные транспортные процессы играют большую роль в контроле содержания и распределения метаболитов.

## 7.5. ОЛИГОПЕПТИДЫ НЕРВНОЙ ТКАНИ (НЕИРОПЕПТИДЫ)

В последние годы исключительно возрос интерес исследователей к контролю важнейших функций мозга с помощью пептидных факторов. Открыто много пептидов, способных в очень низких концентрациях воздействовать на нервную ткань, выступая в качестве модуляторов ряда функций, а также нейромедиаторов, гормонов, анальгетиков. Олигопептиды в ряде случаев могут изменять поведенческие реакции животных, выявляется роль этих соединений в механизмах памяти. Исследова-



ния нейронально активных пептидов еще находятся в начальной стадии, поэтому отсутствует классификация пептидов, неясен в большинстве случаев вопрос о происхождении нейропептидов — являются ли они результатом деградации белковых молекул или синтезируются *de novo*. Открываются все новые и неожиданные аспекты функциональной роли этих соединений.

### Гистидинсодержащие пептиды мозга

Группу этих пептидов представляют дипептиды карнозин ( $\beta$ -аланилгистидин), ансерин ( $\beta$ -аланил-N-метилгистидин), гомокарнозин ( $\gamma$ -аминобутирил-L-гистидин) и гомоансерин ( $\gamma$ -аминобутирил-L-метилгистидин). Гомокарнозин и гомоансерин являются относительно специфичными для ткани мозга, что, вероятно, связано с большим содержанием ГАМК в общем пуле свободных аминокислот мозга, в то время как карнозин и ансерин, открытые Гулевичем и сотрудниками в 30-х годах, преимущественно представлены в мышцах. В отношении распределения гомокарнозина в различных отделах мозга в литературе имеются противоречия. Из мозга крысы был выделен фермент гомокарнозинкарнозинсинтетаза — ферментативная система, ответственная за синтез обоих пептидов. ГАМК является конкурентным ингибитором синтеза карнозина.

Гомоансерин был выделен из мозга быка, его концентрация составляет 1 мг/кг свежей ткани. Синтез гомоансерина с участием карнозинметилтрансферазы показан в мозгу морской свинки и крысы. Физиологическая роль гистидинсодержащих дипептидов в мозгу только начинает проясняться. Эти дипептиды обнаруживаются в основном в возбудимых тканях. Полагают, что гомокарнозин может быть ингибиторным медиатором в мозгу или неактивной формой ГАМК. Недавно представлены убедительные доказательства того, что карнозин является трансмисмиттером в первичных сенсорных путях и главным образом в обонятельном нерве.

### Гамма-глутамилпептиды мозга

В головном мозгу позвоночных представлена значительная группа низкомолекулярных  $\gamma$ -глутамильных пептидов:  $\gamma$ -L-глутамил-L-глутамат,  $\gamma$ -L-глутамил-L-глутамин,  $\gamma$ -L-глутамил-L-глицин,  $\gamma$ -L-глутамил-L-аланин и др. Возможно, что все эти пептиды образуются в ходе цикла синтеза и деградации глутатиона ( $\gamma$ -L-глутамил-L-цистеинил-L-глицин) — пептида, широко распространенного во всех тканях. Трипептид глутатион ответствен за 1/3 немакромолекулярного (кислотно-экстрагируемого) азота и около 95% всех сульфгидрильных групп в мозгу. Цикл превращений его включает 6 ферментативных реакций (рис. 33).



фермент  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза переносит  $\gamma$ -глутамильную группу глутатиона на различные аминокислоты, образуя  $\gamma$ -глутамилпептиды по схеме

Глутатион + Аминокислоты  $\rightarrow$   $\gamma$ -Глутамиламино кислоты + Цистеинилглицин  
 $\gamma$ -Глутамилпептиды были выделены из многих тканей, но наиболее широко они представлены в мозгу. Цикл может функционировать почти со всеми имеющимися в мозгу кислотами за исключением пролина. Наиболее интересным и ключевым ферментом этого цикла является  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза, прочно

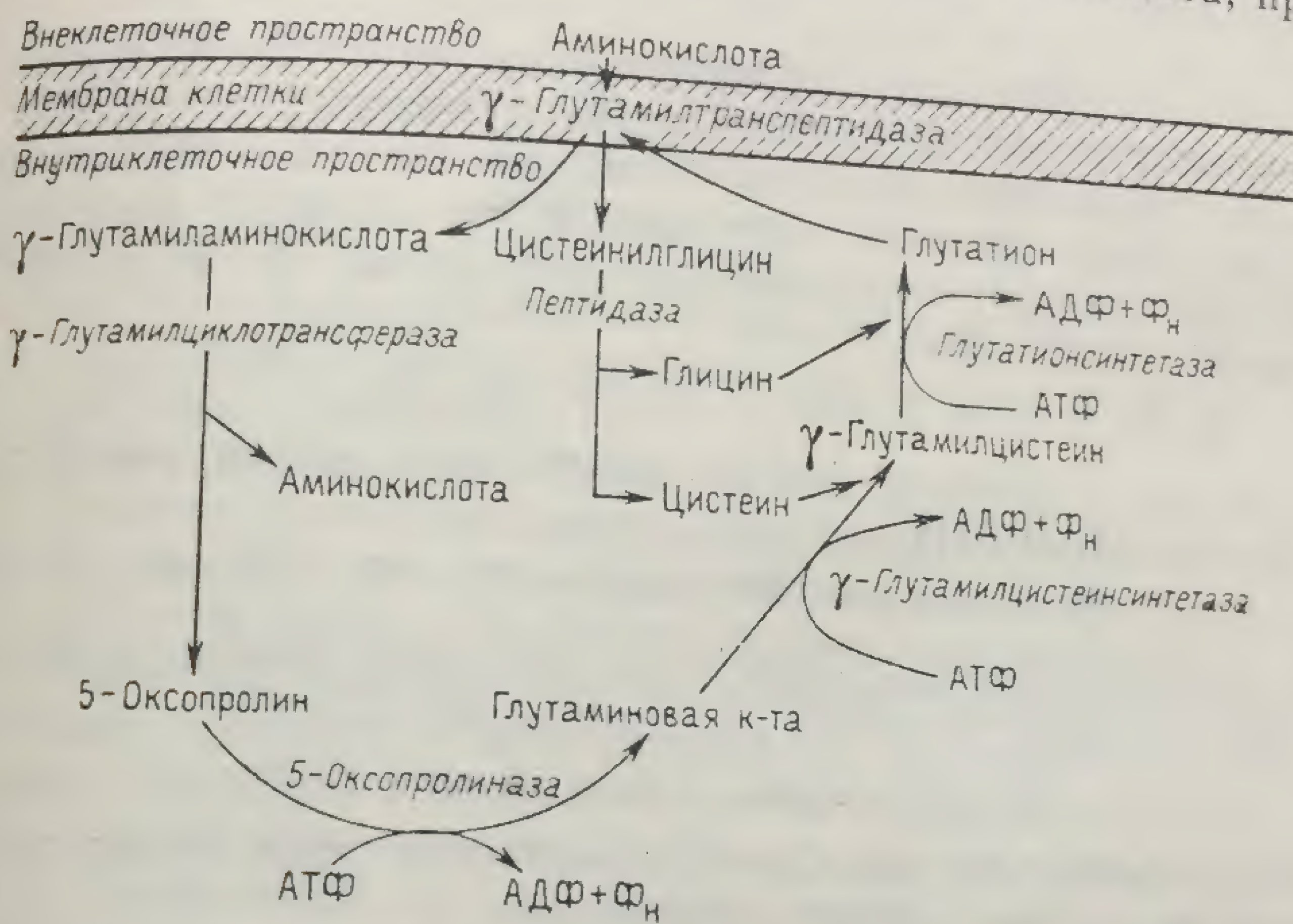


Рис. 33. Гамма-глутамильный цикл (Maister, 1973).

связанная с клеточной мембраной. Этот энзим способен переносить  $\gamma$ -глутамильную группу глутатиона, находящегося внутри клетки, на аминокислоту, находящуюся с наружной стороны мембраны, и освободить образующийся дипептид внутри клетки. Таким образом,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазная реакция является одним из механизмов транспорта аминокислот. Затем уже внутри клетки  $\gamma$ -глутамилпептид при участии следующего фермента этого цикла —  $\gamma$ -глутамилциклотрансферазы — высвобождает аминокислоту и образует 5-оксопролин, который при участии 5-оксопролиназы превращается в глутаминовую кислоту. В то же время цистеинилглициновый остаток глутатиона при участии пептидазы распадается на 2 аминокислоты (см. рис. 33). Глутаминовая кислота вновь конденсируется с цистеином при участии  $\gamma$ -глутамилцистеинсинтетазы, образуя  $\gamma$ -глутамилцистеин. В ходе следующей, глутатионсинтетазной реакции, происходит присоединение глицина к дипептиду  $\gamma$ -глутамилцистеину и образуется трипептид глутатион. Майстер и сотр. обнаружили все ферменты этого цикла в мозгу и других тканях и показали



Фермент  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза переносит  $\gamma$ -глутамильную группу глутатиона на различные аминокислоты, образуя  $\gamma$ -глутамилпептиды по схеме

$$\text{Глутатион} + \text{Аминокислоты} \rightarrow \gamma\text{-Глутамиламино кислоты} + \text{Цистеинилгл}$$

$\gamma$ -Глутамилпептиды были выделены из многих тканей, но более широко они представлены в мозгу. Цикл может функционировать почти со всеми имеющимися в мозгу кислотами, исключением пролина. Наиболее интересным и ключевым компонентом этого цикла является  $\gamma$ -глутамилтранспептидаза, пр

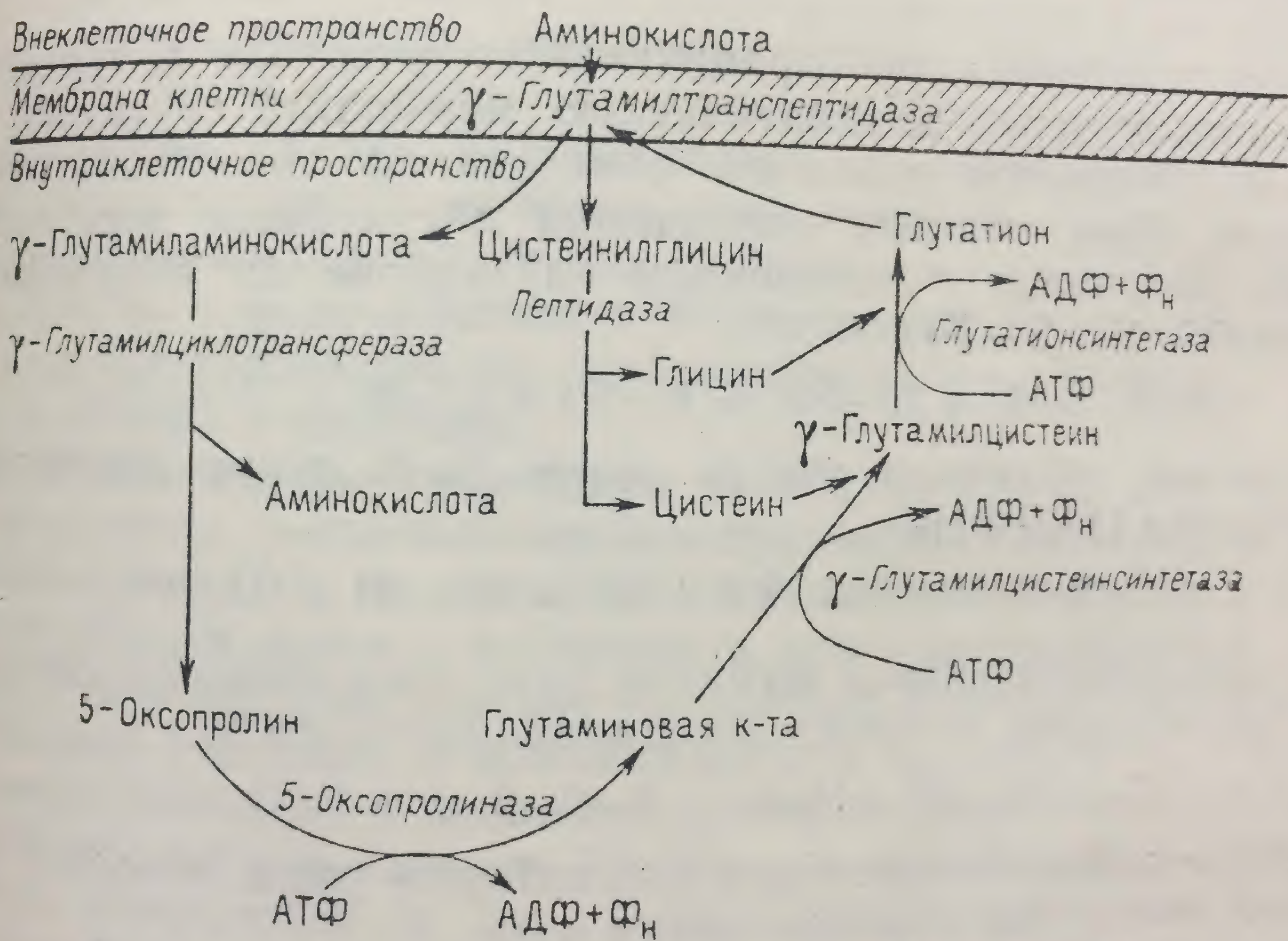


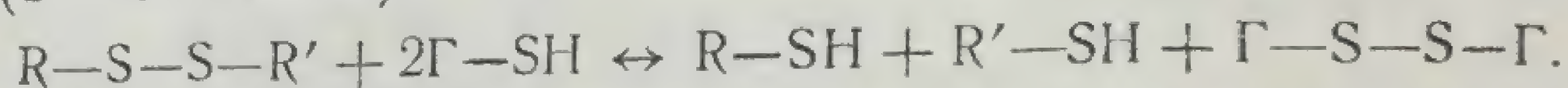
Рис. 33. Гамма-глутамильный цикл (Maister, 1973).

связанная с клеточной мембраной. Этот фермент способен переносить  $\gamma$ -глутамильную группу глутатиона, находящегося внутри клетки, на аминокислоту, находящуюся с наружной стороны мембраны, и освободить образующийся дипептид внутри клетки. Таким образом,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазная реакция является одним из механизмов переноса аминокислот. Затем

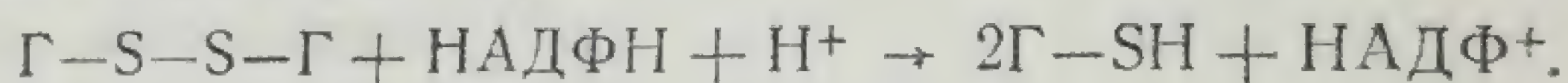


функционирование его *in vivo*. Исследуя ингибиторы 5-оксопролиназы, они установили накопление 5-оксопролина у животных. Более того, авторы обнаружили группу больных, которые экскретируют 25—50 г. оксопролина в день, в то время как обычная норма — несколько мг. У этих больных оказалось наследственное заболевание, связанное с функционированием  $\gamma$ -глутамильного цикла. Майстер обнаружил блокирование глутатионсинтетазы в эритроцитах этих больных, а также в культивированных фибробластах, полученных от этих больных, у которых наблюдалась гемолитическая анемия и ментальные расстройства.

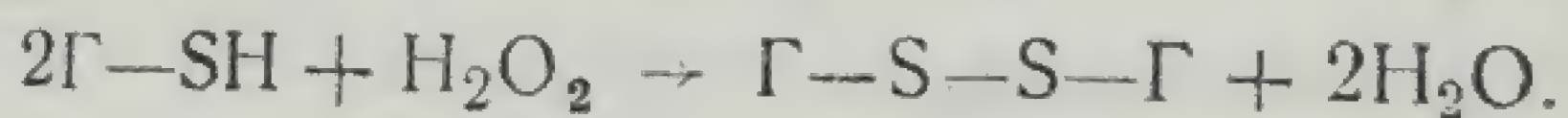
Роль глутатиона не ограничивается участием в транспорте аминокислот через плазматическую мембрану; глутатион, как известно, является мощным окислительно-восстановительным буфером. При участии глутатиона дисульфиды восстанавливаются до тиолов с окислением глутатиона до дисульфидной формы (Г—S—S—Г)



Окисленный глутатион может затем быть снова восстановлен при участии НАДФН<sub>2</sub>



Кроме перечисленных функций глутатион способен связывать тяжелые металлы, а также восстанавливать H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



Глутатион может также быть кофактором ряда энзиматических реакций, таких как глиоксилазная и др.

### **N-ацетилированные нейропептиды**

Характерной особенностью метаболизма нервной ткани является наличие в ней ряда ацетилированных аминокислот и низкомолекулярных пептидов, которые являются либо специфичными для нервной ткани, либо содержатся в ней в наибольших количествах. Наиболее распространенными ацетилированными аминокислотами, которые входят в состав низкомолекулярных пептидов мозга, являются N-ацетиласпарагиновая, N-ацетилглутаминовая кислоты и N-ацетилгистидин. N-ацетиласпарагиновая кислота является основным компонентом пула свободных кислот и присутствует во всех отделах мозга млекопитающих, она локализована как в нейрональных, так и в глиальных клетках.

Из других ацетилированных аминокислот N-ацетилгистидин обнаружен в основном в мозгу рептилий, амфибий и рыб. В мозгу млекопитающих и рыб обнаружены также N-ацетилглутаминовая кислота, N-ацетилглутамин, N-ацетиларгинин и N-ацетилаланин. Функциональная роль этих аминокислот мало известна. Норвежский ученый Квамме и сотрудники в 70-х годах от-



крыли АТФ-зависимый синтез N-ацетиласпартатпептидов и показали присутствие и образование в гомогенатах мозга разнообразных низкомолекулярных ацетил-аспартатпептидов (А-Асп-Глу, А-Асп-Глу-Асп, А-Асп-Гли-Сер и т. д.), в том числе и пептидов, содержащих таурин, аланин, ГАМК и цистеин.

Синтез N-ацетиласпартатпептидов нематричный, не зависит от синтеза белка и не подавляется ингибиторами белкового синтеза. Он зависит от АТФ и от присутствия определенных аминокислот и моноаминов. Несмотря на то, что многие биологически активные пептиды образуются при действии пептидаз, в данном случае зависимость синтеза от АТФ и включение в пептиды метченых предшественников, таких как глицин и глутамат, позволяет считать синтез de novo этих пептидов более вероятным. Обнаружен также синтез ацетилированных пептидоаминов. Хотя ткань мозга содержит активные трансклутаминазы, остается неизвестным, вовлекаются ли они в синтез пептидоаминов. Оказалось, что во взаимодействие с N-ацетиласпартатом вовлекаются трансмиссероактивные моноамины — норадреналин, допамин, серотонин и гистамин.

Наиболее распространенным и специфичным для нервной ткани является N-ацетиласпартатилглутаминовый пептид, он обычно составляет 10% от содержания N-ацетиласпартата в мозгу. При инкубации мозга с гистамином или норадреналином содержание этого пептида заметно снижается. Взаимодействие ацетилированных пептидов с моноаминами и возможность образования самих пептидов с трансмиссероактивными аминокислотами, такими как таурин, глицин, ГАМК и т. д., дает почву для различных спекуляций в отношении функции этих соединений. Предполагается, что они могут не только участвовать в нейрональной передаче, но также интегрировать большое число сигналов, действующих на нейрон, и, возможно, регулировать межнейронную коммуникацию. Выяснение функциональной роли этих пептидов — пока вопрос будущего.

### Вещество P, его строение и физиологическое действие

Это соединение, открытое в 30-х годах и представляющее собой ундекапептид: Н—Арг-Про-Лиз-Про-Гли-Гли-Фен-Фен-Гли-Лей-Мет—NH<sub>2</sub>, широко распространено в нервных окончаниях различных отделов ЦНС. Особенно им богат гипоталамус, черное вещество, кора мозга, сплетения Ауэрбаха. Обнаружено вещество P в дорзальных ганглиях, периферических нервах, желудочно-кишечном тракте и даже в желчном пузыре. Вещество P полифункционально. Оно обладает спазмогенной активностью, вызывая сокращение ряда гладких мышц, например сокращение гладкого кишечника. Известно действие вещества P на сосудистые реакции: в зависимости от дозы и от вида животного оно либо повышает, либо понижает кровяное давление. Так, у цып-



ляют вещество *P* повышает кровяное давление, а у крыс — реакция двухфазная. Снижение кровяного давления у крыс связано с эффектом самого пептида, а последующее повышение его — с высвобождением катехоламинов из адренергических нейронов.

Этот нейропептид действует на нейрональную активность, возбуждая мотонейроны, другие спинальные и кортикальные, а также клиновидные нейроны. Лембек (Lembek, 1953) на большем экспериментальном материале показал, что вещество *P* действует как трансмиссер на сенсорный вход головного мозга. Одним из предполагаемых трансмиссеров, действующих на сенсорный вход, является глутаминовая кислота. Оба этих вещества — глутаминовая кислота и субстанция *P* — присутствуют в дорзальных корешках, причем пептид на несколько порядков более активен, чем глутамат (по концентрации) в возбуждении мотонейронов. Установлено, что вещество *P* оказывает и возбуждающий и ингибиторный эффекты на спонтанную электрическую активность клиновидных клеток, которые представляют собой афферентный вход. Вызванное глутаматом повышение активности этих клеток депрессировалось пептидом. Таким образом, вещество *P* может быть трансмиссером в сенсорном входе ЦНС. Локализация в задних корешках спинного мозга указывает на связь субстанции *P* с восприятием боли. Действительно, вещество *P* оказывает защитное действие, модулируя эффекты анальгетиков и алгетиков.

В последнее время показана роль субстанции *P* в обучении животных, например, она улучшала обучение животных с невротическими расстройствами.

#### 7.6. ГИПОФИЗАРНЫЕ И ГИПОТАЛАМИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ В ЦНС

Исследования последних лет позволили выявить разницу между эндокринными и поведенческими эффектами гипофизарных и гипоталамических гормонов, что значительно расширило наши взгляды на роль гипофизарно-гипоталамических пептидов в функционировании нервной системы. Начало этому положили исследования на гипофизэктомированных животных, у которых помимо общих эндокринных и метаболических нарушений обнаружился ряд изменений в поведенческих реакциях. Но самым интересным оказалось то, что эти поведенческие нарушения исчезали при введении животным фрагментов гипофизарных гормонов, лишенных гормональной активности. Так возникло предположение о наличии активных пептидов, которые могут образовываться из гипофизарных гормонов.

#### Влияние пептидов на адаптивные поведенческие реакции

В начале 60-х годов было показано, что меланоцитстимулирующий гормон (МСГ), АКТГ и вазопрессин в микрограммах



значительно ускоряют формирование и продолжительность сохранения ряда рефлексов с отрицательным подкреплением у крыс. Эффекты наблюдаются как у гипопизэктомированных, так и у интактных животных. Было показано, что обломки гипофизарных гормонов — АКТГ<sub>4-10</sub> и лизил<sup>8</sup>-вазопрессин (ЛВП) — восстанавливали выработанный ранее у крыс рефлекс избегания определенных камер в лабиринте (отрицательное подкрепление электрическим током), но действие этих двух пептидов принципиально отлично: пептиды, образованные из АКТГ, имеют кратковременный эффект, а из вазопрессина — долговременный. Качественное различие в действии этих пептидов было получено как у гипопизэктомированных, так и у интактных крыс. Так, единственная инъекция АКТГ<sub>4-10</sub> задерживала затухание оборонительного рефлекса с отрицательным подкреплением у интактных крыс на несколько часов, а инъекция вазопрессина — на несколько дней.

В дальнейшем было обнаружено, что осколок  $\beta$ -липотропного гормона —  $\beta$ -ЛТГ<sub>61-69</sub> — в 10 раз активнее АКТГ<sub>4-10</sub> в задержке затухания оборонительного рефлекса. То же самое обнаружено для  $\beta$ -ЛТГ<sub>61-76</sub> и  $\beta$ -ЛТГ<sub>61-91</sub>, а АКТГ<sub>4-10</sub> оказался идентичным  $\beta$ -ЛТГ<sub>47-53</sub> и  $\beta$ -МСГ<sub>4-10</sub>. Таким образом, пока еще неизвестно, какой из гипофизарных гормонов является предшественником молекул нейропептидов — модуляторов адаптивного поведения.

Позднее было показано, что действие на память связано с тетрапептидом Н—Мет-Глю-Гис-Фен—ОН, занимающим в исходном АКТГ позиции № 4—7, в  $\beta$ -МСГ быка — № 8—11, свиньи, лошади, овцы, верблюда и обезьяны — №№ 7—10, в  $\alpha$ -МСГ всех перечисленных видов животных — № 4—7. Меньшей была активность трипептида Н—Глю-Гис-Фен—ОН. Эти тетра- и трипептид обозначают как АКТГ<sub>4-7</sub> и АКТГ<sub>5-7</sub>.

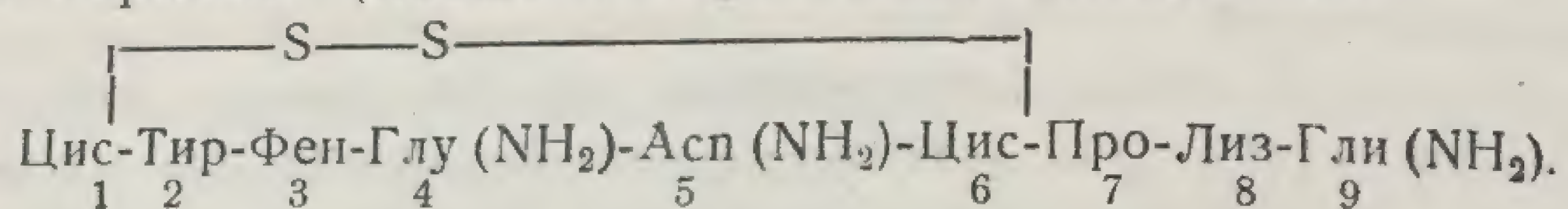
Аргинил- и лизилвазопрессин улучшают память. Лизилвазопрессин предохраняет мышей против потери памяти, вызванной пуромицином. Вазопрессин способствует консолидации памяти, этот эффект главным образом связан с N-терминальным ковалентным кольцом структуры вазопрессина. Предохранительный эффект нейрогипофизарных гормонов на вызванную пуромицином амнезию у мышей локализован в C-концевых фрагментах этих пептидов. Таким образом, все перечисленные выше наблюдения о действии АКТГ и вазопрессина на обучение и память животных впервые показали разницу между эндокринными и поведенческими эффектами гипофизарных и гипоталамических гормонов. Исследования в этой области продолжаются.

### Нейрогипофизарные пептиды, действующие на нейрональную возбудимость

Некоторые из нейрональных пептидов являются, по-видимому, нейротрансмиттерами, производя либо кратковременные из-

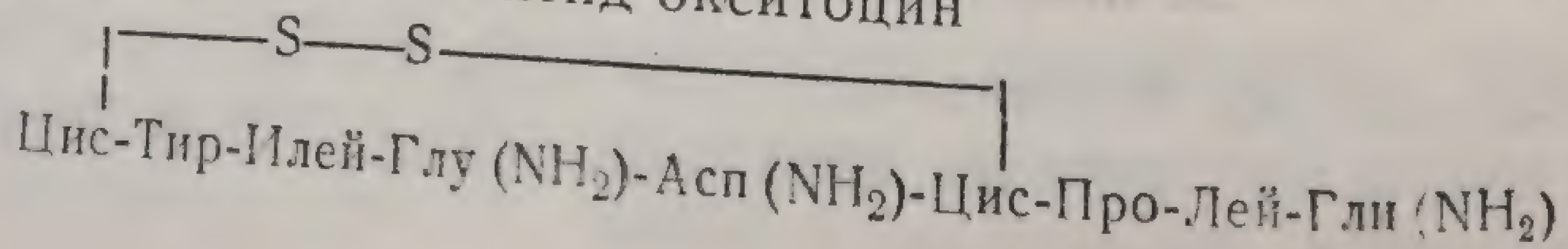


менения нейрональной возбудимости, либо участвуя в долговременной регуляции возбудимости и в синаптическом действии. К этим пептидам относятся нейрогипофизарные гормоны, которые синтезируются клетками паравентрикулярных и супраоптических ядер, затем транспортируются через нервные окончания в нейрогипофиз и гипоталамус и освобождаются в циркуляцию и в цереброспинальную жидкость. Ранее полагали, что физиологическое действие этих пептидов — не нейрональное и включает ресорбцию воды, лактацию и сокращение гладкой мускулатуры. Позже оказалось, что эти пептиды имеют ряд нейрональных функций. Например, антидиуретический гормон (АДГ), вырабатываемый супраоптическими клетками, может в дальнейшем вовлекаться в функционирование самой супраоптической нейросекретной системы (СОН). Структура антидиуретического гормона (лизилвазопрессина) следующая:



Несколькими лабораториями получены электрофизиологические доказательства наличия возвратных ингибиторных путей в СОН-системе без вовлечения в нее ингибиторных интернейронов. Результаты фармакологических исследований подтвердили, что широкий ряд агентов, в том числе и АДГ, угнетает СОН-клетки при микроионофоретическом введении. Ингибиторный эффект АДГ оказался специфичным для СОН-клеток, кортикальные клетки или не отвечали на наложение пептида или возбуждались им. Была высказана гипотеза, что АДГ по возвратным коллатералям вновь поступает в СОН-клетки, производя ингибиторный эффект. Наличие ингибиторных АДГ-рецепторов на АДГ-производящих клетках подтверждает существование цикла отрицательной обратной связи. Кроме опосредования возвратного ингибирования существует другая возможность действия АДГ на СОН-клетки. Пептид может модулировать электрическую активность СОН-клеток или повышая освобождение транмиттеров с ингибиторным эффектом (норадреналина, глицина и ГАМК), или понижая освобождение возбудительных транмиттеров (ацетилхолина). В настоящее время вопрос о механизме ингибирования СОН-клеток антидиуретическим гормоном остается открытым — еще требуется установить, имеет ли здесь место отрицательная обратная связь, или модуляция этим гормоном освобождения транмиттеров.

Второй нейросекреторной системой, которая обнаруживает возвратный эффект образованного в самой системе пептида, является паравентрикулярная нейросекреторная система (ПВН). Образующийся в ней пептид окситоцин





возбуждает ПВН-клетки. Электрофизиологическими исследованиями были представлены доказательства наличия обратного возбудительного пути в ПВН-клетках, однако эти исследования пока находятся в начальной стадии. Недостаток знаний относительно анатомии возвратных коллатералей в СОН- и ПВН-системах, а также несовершенство микроионофоретической техники не позволяют с уверенностью говорить о действии этих пептидов в возвратной возбудимости.

Ангиотензин II, имеющий строение

Асп—Арг—Вал—Тир—Илей—Гис—Про—Фен,

является октапептидом, образованным из находящегося в циркулирующей крови декапептида-предшественника (ангиотензина I) действием энзима.

Установлено, что ангиотензин II имеет периферическое действие, выражающееся в регуляции водного и солевого баланса и сосудистых реакций — регулирование кровяного давления и объема кровотока. Периферический прессорный ответ возможен благодаря прямому действию ангиотензина II на сосуды, а также на систему сосудистой иннервации. Ангиотензин II действует на адренергические нервные волокна пресинаптическим образом, повышая освобождение норадреналина, а также подавляя обратный захват норадреналина и увеличивая его синтез. Никаких изменений в постсинаптическом ответе не обнаружено. Показано также преганглионарное освобождение этим пептидом ацетилхолина. Кроме того, ангиотензин II регулирует водный и солевой баланс организма, действуя на возбудимость гипоталамических нейронов, влияющих на питьевой режим животных.

Ангиотензин II также освобождает АДГ из нейрогипофиза при внутригипоталамическом введении или после наложения на изолированный нейрогипофиз, показывая тем самым, что окончания СОН-аксона имеют рецепторы для ангиотензина II, последнее подтверждается и микроионофоретической аппликацией пептида в область СОН-клеток. Ангиотензин II вызывает возбуждение, подтверждая присутствие рецепторов пептида в СОН-клетках. Исследование действия ангиотензина II на СОН-клетки, содержащиеся в органной культуре, показали однозначное возбуждение ангиотензином II этих клеток. Следовательно, можно заключить, что роль ангиотензина II в регуляции солевого и водного баланса и сосудистого ответа не ограничивается периферическим действием.

### Действие либеринов и статинов на нейрональную активность

Появляются доказательства, что пептидные релизинг-факторы (либерины) могут участвовать не только в высвобождении гормонов передней доли гипофиза, но и имеют ряд фармакологиче-

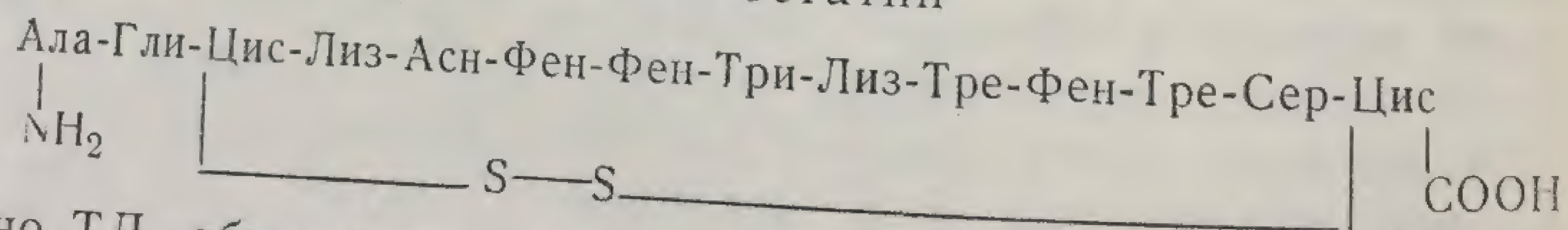


ческих эффектов. Это подтверждается изменениями в ответе ЦНС на депрессанты и стимуляторы у гипофизэктомированных животных. Так, тиролиберин (ТЛ), который является пироглутамил-гистидил-пролинамидом, повышает спонтанную моторную активность и гиперактивность, вызванную ингибиторами МАО + L-ДОФА. Этот же гормон устраняет токсичность фенobarбиталов и снижает дозу стрихнина, требуемую для развития конвульсий, в то время как гормон, ингибирующий освобождение гормона роста (соматостатин), оказывает противоположное действие. Подобным образом ТЛ снимает наркоз, вызванный этанолом или фенobarбиталом. Наконец, ТЛ может вовлекаться в терморегуляцию. Так, при интракраниальной инъекции ТЛ вызывает сильную гипотермию. Оказалось, что ТЛ более активен в понижении температуры тела, чем все известные гипотермические факторы.

Очевидно, ЦНС можно рассматривать как орган-мишень для некоторых пептидных релизинг-факторов. Недавно в нескольких лабораториях было показано, что микроионофоретическая аппликация ряда таких гормонов — ТЛ, релизинг-гормона лютеинизирующего гормона (люлиберина) и соматостатина — на нейроны ЦНС вызывает депрессию нейрональной активности в мозжечке, коре мозга, стволе мозга и гипоталамусе. Во многих случаях была обнаружена чувствительность к пептидам в районах, где эти пептиды прежде не были обнаружены, причем они изменяли возбудимость нервных клеток при концентрациях, в 1000 раз меньших, чем обычно используемые в ионофоретических исследованиях. Структура этих факторов установлена; например, люлиберин представляет собой декапептид следующего строения:

(Пиро) Глу-Гис-Три-Сер-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли (NH<sub>2</sub>).

Третий гипоталамический гормон, контролирующий освобождение гормонов гипофиза, — соматостатин



подобно ТЛ, обнаружен повсюду в мозгу, а также содержится в поджелудочной железе и желудочно-кишечном тракте. Гипоталамус и преоптический район имеют наиболее высокие уровни соматостатина по сравнению с другими районами мозга, на ЦНС соматостатин оказывает угнетающее действие. Из других эффектов соматостатина следует указать на потенцирование им действия стрихнина с одновременным снижением токсичности последнего. В отличие от ТЛ соматостатин повышает токсичность фенobarбитала.

Исследование действия пептидов на нейрональную возбудимость продолжается.







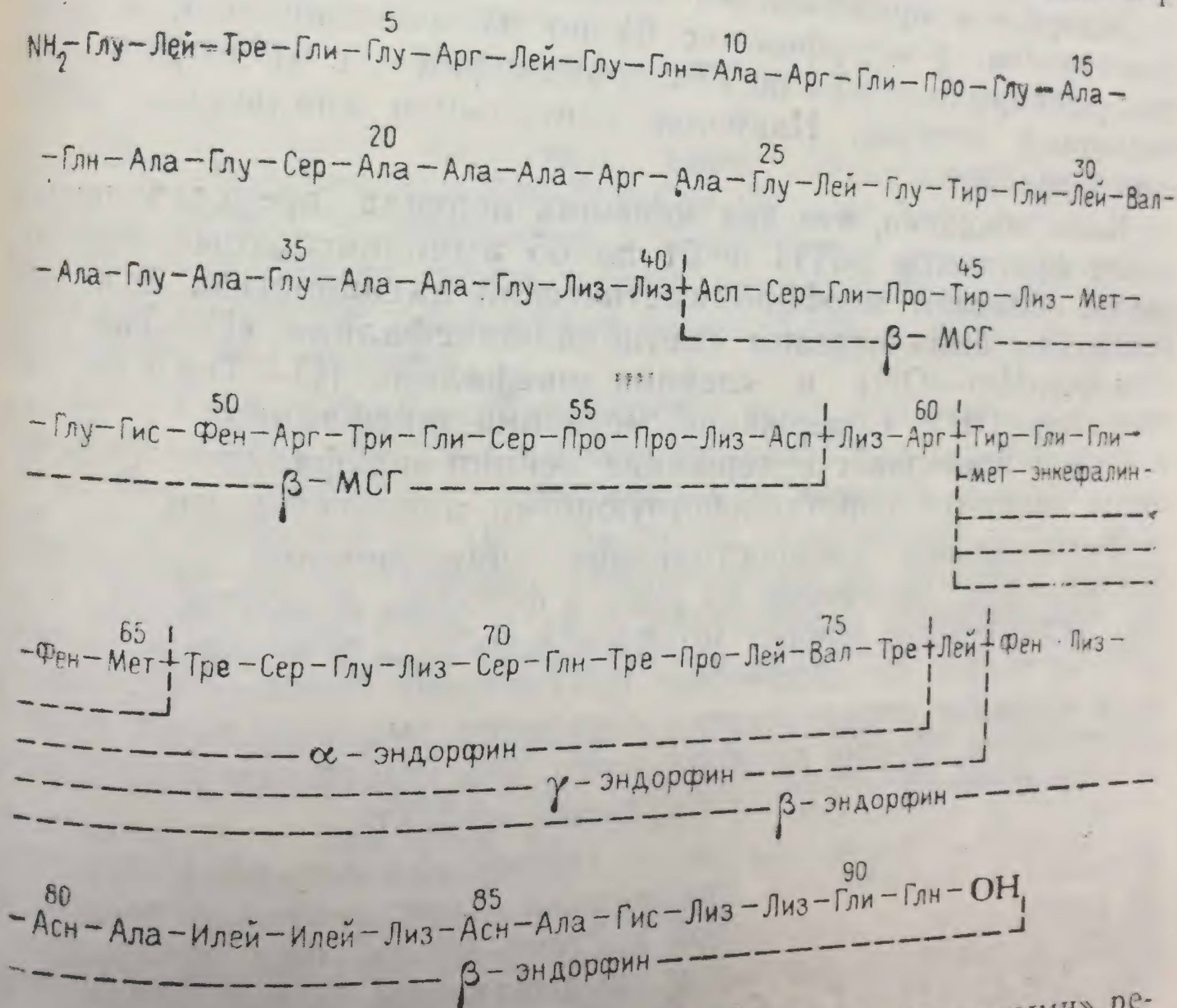
14 Зак. 57



да еще... комплекс является источником этого пептида. Структура пепти- жение основано на том, что некоторые пептидные гормоны дей- ствуют на сон. Так, гормон роста избирательно устраняет фазу парадоксального сна (ПС) в течение 3 ч после инъекции. У чело- века обнаружено значительное повышение секреции гормона роста в течение медленных волн сна. Гипофизэктомированные крысы имели более короткую фазу ПС и теряли нормальный циркадный ритм ПС.

## Пептиды и болевые реакции

В 70-х годах Гольдштейн и сотрудники обнаружили в мозгу различных позвоночных животных рецепторы, связывающие мор-



финоподобные вещества, которые они называли «опиатными» ре- цепторами; у беспозвоночных животных они отсутствуют. Эти ре- цепторы находятся на синаптических мембранах, наибо- лее подверженной воздействию которой зависит эмо-



циональный ответ. Наличие таких высокоспециализированных рецепторов, связывающих опиум, удивило исследователей и заставило их предположить наличие эндогенных лигандов, которые связывали бы этот рецептор. Поиски эндогенных морфиноподобных веществ увенчались успехом — в 1975 г. были найдены естественные морфиномиметики, которые оказались пептидами.

Эндогенные пептиды, экстрагированные из гипофиза, взаимодействуют с рецепторами и производят анальгезию при инъекции в мозг крыс. Распространение этих пептидов в мозгу свиней и обезьян сходно с местами расположения опиатных рецепторов. Подобно морфину они подавляют сокращение гладкой мускулатуры. Данный эффект снимается антагонистом морфина — налоксоном. Эти пептиды, обладающие морфиноподобной активностью, получили название эндорфинов. В ходе очистки эндорфинов стало очевидным, что пептиды с различным молекулярным весом могут обладать различной морфиноподобной активностью. Все они оказались С-концевыми фрагментами  $\beta$ -липотропина, имеющего строение, показанное на с. 209.

Эндорфины представляют собой следующие фрагменты  $\beta$ -липотропина:  $\beta$ -эндорфин — с 61 по 91 аминокислотный остаток,  $\gamma$ -эндорфин — с 61 по 77 и  $\alpha$ -эндорфин — с 61 по 76 аминокислотный остаток. Наиболее длительную анальгезию вызывает  $\beta$ -эндорфин.

Было показано, что два меньших пептида, представляющих собой фрагменты  $\beta$ -ЛТГ с 61 по 65 аминокислотный остаток, также обладают морфиномиметической активностью. Эти пентапептиды были названы «метионин-энкефалин» (Н—Тир-Гли-Гли-Фен-Мет—ОН) и «лейцин-энкефалин» (Н—Тир-Гли-Гли-Фен-Лей—ОН). Содержание метионин-энкефалинов в мозгу в 4 раза превышает содержание лейцин-энкефалинов. Энкефалины являются короткодействующими анальгетиками.

Региональное распространение эндорфиновых рецепторов подтверждает некоторую их роль в функции лимбической системы. Характерный эффект морфиноподобных веществ на человека — не только специфическое притупление болевых ощущений, но и создание определенного состояния эмоциональной индифферентности. Можно предположить, что эндорфины играют центральную роль в контроле состояния аффекта.

Недавно выявлен пептид, по своему эффекту обратный энкефалинам и эндорфинам. Брадикинин — нонапептид, относившийся ранее лишь к кининовой системе крови, был обнаружен в мозгу и оказался фактором, вызывающим боль. Брадикинин (Н—Арг-Про-Про-Гли-Фен-Сер-Про-Фен-Арг—ОН) обнаружен также в гипоталамусе, присутствует в небольших количествах и в других отделах мозга.



## Пептиды-коннекторы

Описан целый ряд пептидов, так называемых пептидов-коннекторов, которые ряд исследователей считают непосредственными детерминантами формирования определенных условных рефлексов и довольно сложных навыков. Эту точку зрения разделяют не все исследователи. Так, некоторые из них полагают, что пептиды-коннекторы являются не детерминантами памяти, а регуляторами некоторых специфических форм врожденного поведения животных. Пептиды-коннекторы представляют исключительный интерес. Наиболее изученными из них являются амелитин, скотофобин, хромодиопсин и катабатмофобин. Все они получены из мозга животных, тренированных к тому или иному навыку. При введении в мозг они сообщают необученному животному тот же навык.

**Амелитин**, по-видимому, имеющий строение  $p$ -Глу-Глу-Гли-Тир-Сер-Лиз-ОН, образуется в мозгу белых крыс при призывании к резкому звуку определенной частоты и продолжительности. После введения амелитина, выделенного из этого животного, необученной крысе, она не реагирует на резкий звук той же частоты и продолжительности. Эффективная доза — 10 нг.

**Скотофобин**, вероятно, имеет следующее строение: Н — Сер-Асп-Асн-Асн-Гли-Гли-Гли-Лиз-Сер-Ала-Гли-Гли-Гли-Тир- $\text{NH}_2$ . Он образуется в мозгу белых крыс при воспитании у них страха перед темной частью лабиринта. После введения природного препарата белые крысы и мыши, а также рыбы избегают темноты.

**Хромодиопсин** образуется в мозгу золотых рыбок при выработке у них рефлексов избегания синей или зеленой стенки аквариума. Этот рефлекс передается необученным золотым рыбкам после введения им хромодиопсина. Химический состав хромодиопсинов не установлен. Хромодиопсин «к зеленому цвету» расщепляется трипсином и химотрипсином, а хромодиопсин «к синему цвету» устойчив к трипсину и расщепляется химотрипсином.

**Катабатмофобин** имеет молекулярный вес 1700—1950, образуется в мозгу белых крыс при формировании двигательного оборонительного рефлекса избегания определенной последовательности движений. Введение катабатмофобина сообщает необученным белым крысам этот рефлекс.

Механизм действия этой интереснейшей группы соединений пока неясен. После введения животному скотофобин преимущественно локализуется в коре. Высказывались предположения, что действие этих пептидов основано на специфическом связывании с определенными небольшими группами синапсов, надолго повышающем их проводимость (отсюда и термин — пептиды-коннекторы). Для изучения этого класса пептидов требуется четкое установление их структуры.



Таким образом, выявлена огромная, хотя еще почти не изученная роль пептидов в функционировании нервной системы. Они оказывают влияние на возбудимость нервной ткани, выполняя роль медиаторов и участвуя в возвратном ингибировании нейронов, выступают в роли модуляторов различных процессов, участвуют в создании межнейрональной связи. Пептиды могут быть не только кратковременными медиаторами химической передачи, но и долговременными регуляторами свойств мембраны и синаптического действия. Их действие на нейрональную активность часто выражается в изменении поведенческих реакций животных. Влияние пептидов на различные функции организма — на сосудистые реакции, высвобождение моноаминов, болевые реакции организма, терморегуляцию и, наконец, на сон, память и т. д., позволило предположить регулирование важнейших функций животных пептидными факторами. Связь пептидов с трансмиссероактивными аминокислотами и с моноаминами открывает большие возможности для химического кодирования в нервной системе.

Уст  
тормо  
из ва  
роль в  
Разви  
экспер  
ли аце  
исслед  
ли нов  
В  
ральн  
серото  
амино  
к вещ

Ан  
эфир  
в вод  
групп  
групп

Ан  
траль  
мкг/г



## Глава 8

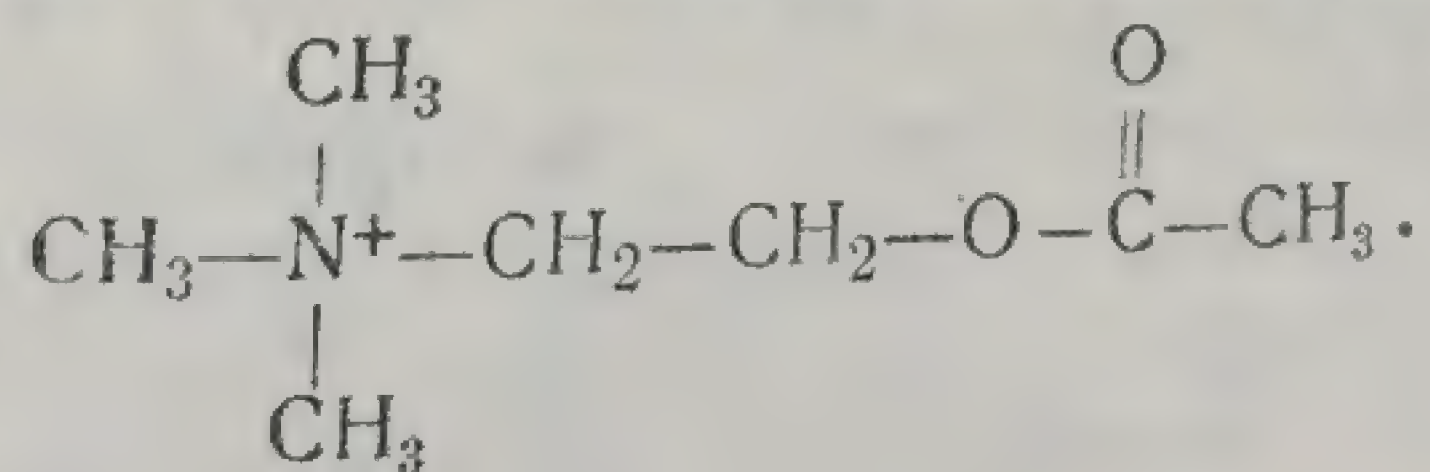
### НЕЙРОМЕДИАТОРЫ

Установление химической природы передачи возбуждения и торможения с нейрона на иннервируемую клетку явилось одним из важнейших достижений современной биологии. Ведущая роль в механизме этой передачи принадлежит нейромедиаторам. Развитие учения о нейромедиаторах связано с именем О. Леви, эксперименты которого по установлению нейромедиаторной роли ацетилхолина еще в 20-е годы привлекли широкое внимание исследователей к проблеме процессов нейромедиации и открыли новое направление в нейрофизиологии.

В настоящее время известно несколько медиаторов центрального действия — это ацетилхолин, норадреналин, дофамин, серотонин и гамма-аминомасляная кислота. Кроме того, такие аминокислоты, как глицин, глутаминовая и гистамин, относятся к веществам с возможными нейромедиаторными функциями.

#### 8.1. АЦЕТИЛХОЛИН

Ацетилхолин представляет собой крайне нестойкий сложный эфир холина и уксусной кислоты, который легко гидролизуется в водных растворах. В составе молекулы АХ выделяют две группы катионную (четвертичный азот с тремя метильными группами), которая несет положительный заряд, и эфирную:



#### Содержание, биосинтез и секреция ацетилхолина в нервной системе

Ацетилхолин широко представлен в различных отделах центральной нервной системы. Ниже приведено содержание АХ (в мкг/г ткани) в различных отделах головного мозга

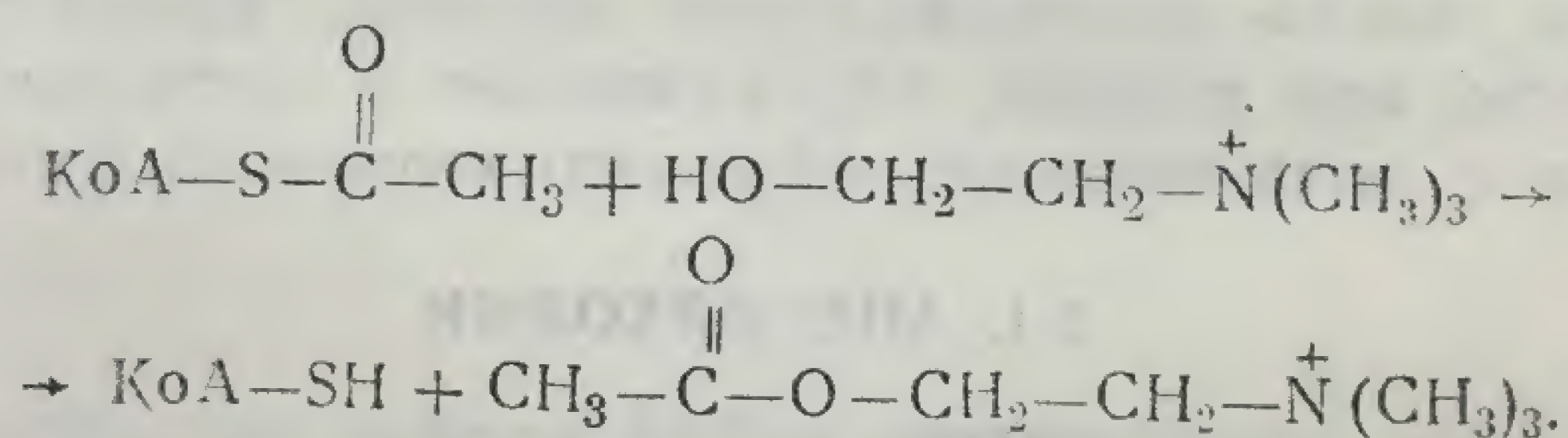


Целый мозг . . . . .	1,6—3,07
Серое вещество . . . . .	1,5—4,5
Белое вещество . . . . .	0,1—0,6
Зрительная кора . . . . .	1,9
Слуховая кора . . . . .	3,5
Базальные ганглии . . . . .	1,5—3,7
Полосатое тело . . . . .	1,5—3,0
Таламус . . . . .	0,6—4,5
Гипоталамус . . . . .	1,0—2,7
Мозжечок . . . . .	0,1—0,6
Гиппокамп . . . . .	2,1

В центральной нервной системе наибольшие количества АХ сосредоточены в базальных ганглиях, таламусе и сером веществе, причем содержание АХ в сером веществе в несколько раз превосходит его содержание в белом веществе больших полушарий. Наименьшее количество АХ содержится в мозжечке.

На основании данных по экстракции ацетилхолина из нервной ткани предполагается, что он находится в ЦНС в трех формах: свободной, которая составляет 25% от общего количества АХ, лабильносвязанной, легко экстрагируемой водой, и прочно связанной с белками. Эти три формы имеют различную локализацию: свободный АХ находится во внеклеточном пространстве, лабильносвязанный — в цитоплазме, а прочносвязанный — в синаптических везикулах. Роль везикул сводится к синтезу, хранению и секреции АХ.

Биосинтез АХ осуществляется в теле нервной клетки с помощью ацетил-КоА и фермента холинацетилтрансферазы (ацетил-КоА: холин-О-ацетилтрансфераза, КФ 2.3.1.6) согласно реакции



Холинацетилтрансфераза представляет собой белок, имеющий сульфгидрильную группировку; в чистом виде до настоящего времени не выделена. Активность этого фермента в отделах головного мозга соответствует содержанию ацетилхолина. С помощью хроматографии на сефадексе G-50 и ДЭАЭ-сефадексе в сочетании с изоэлектрическим фокусированием установлено в головном мозгу наличие трех молекулярных форм ее, а при выделении субклеточных частиц оказалось, что наибольшее количество холинацетилтрансферазы локализовано в синаптосомах. Предполагается, что фермент образуется в телах нервных клеток и доставляется к нервным окончаниям с током аксоплазмы. В экспериментальных условиях при определении его активности необходимо присутствие АТФ, а также эзерина и фтористого натрия, которые угнетают активность холинэстеразы и фосфатаз. Активность холинацетилтрансферазы резко снижается в при-



сутствии моноиодуксусной кислоты, тиоловых ядов, перекиси водорода и солей тяжелых металлов.

Выход ацетилхолина из везикул, так же как и его накопление, происходит квантами. Физиологической единицей действия медиатора является не молекула, а квант, который соответствует в среднем  $10^3$ — $10^4$  молекулам АХ. Когда нервный импульс доходит до нервного окончания и деполяризует его мембрану, везикулы вступают в контакт с пресинаптическую щель. Синаптические везикулы неравномерно распределены в пресинаптической области нервного окончания, они образуют так называемые активные зоны синапса. Недостаток ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и избыток ионов  $\text{Mg}^{2+}$  подавляет процесс нейросекреции ацетилхолина. Особое значение имеет кальций, находящийся на внешней стороне пресинаптической мембраны. Однако для того чтобы оказать влияние на нейросекрецию ацетилхолина, необходимо поступление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  внутрь пресинаптической области синапса. Этот процесс носит активный характер и осуществляется при помощи специфического переносчика. Возможно, что переносчиком  $\text{Ca}^{2+}$  являются фосфолипиды и ганглиозиды, так как установлено, что в состоянии покоя ион  $\text{Ca}^{2+}$  связан с ганглиозидами и трифосфоинозитидами. Вполне вероятно, что замещение  $\text{Ca}^{2+}$  в анионных группировках ганглиозидов и трифосфоинозитидов на ионы натрия является началом перестройки мембраны, которая приводит к резкому повышению проницаемости последней для катионов. Не исключено, что перенос  $\text{Ca}^{2+}$  связан с цАМФ, так как образование цАМФ активируется при возбуждении и деполяризации пресинаптической мембраны, а также все факторы, вызывающие снижение концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , ведут к снижению образования цАМФ.

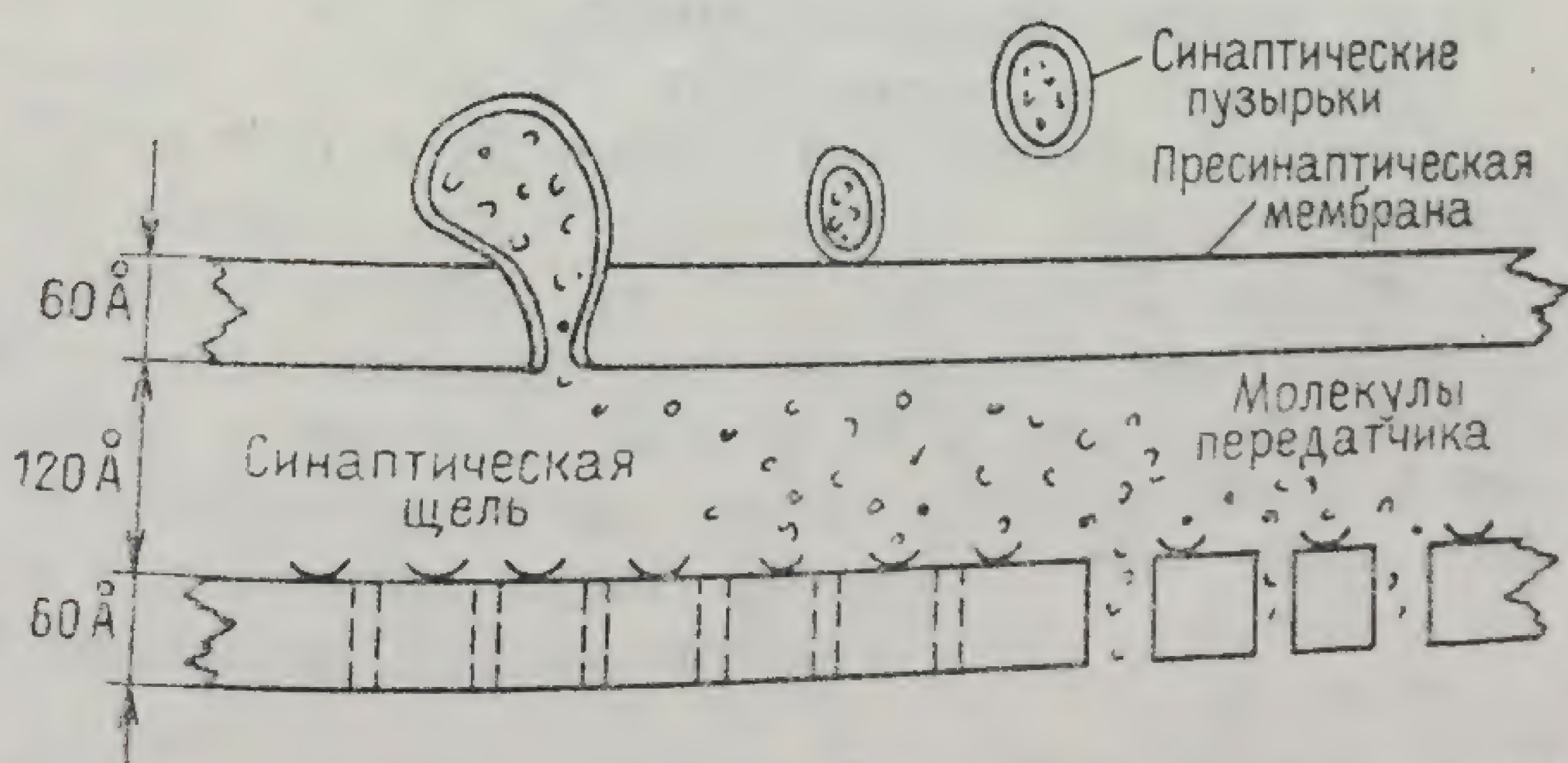


Рис. 34. Схема выхода ацетилхолина из пресинаптических везикул в синаптическую щель.

Освобождение АХ из синаптических везикул возрастает при возбуждении. В период протекания нервного импульса выделяется от 100 до 300 квантов АХ. При подавлении синтеза эндо-



генного ацетилхолина количества его, находящегося в связанной форме, вполне достаточно для обеспечения  $10^5$  импульсов. Таким образом, согласно положению о выделении АХ квантами и везикулярной гипотезы его накопления и хранения можно заключить, что процесс нейросекреции АХ протекает аналогично тому, который происходит в нейросекреторных клетках. Процесс выхода АХ из пресинаптических везикул в синаптическую щель (изображается общепринятой схемой) представлен на рис. 34.

Механизм перехода освободившегося нейромедиатора изучен недостаточно. До настоящего времени не установлено, из каких химических соединений состоит синаптическая щель. Вполне возможно, что АХ проходит через синаптическую щель посредством простой диффузии. Достигнув постсинаптической мембраны, АХ вступает во взаимодействие с холинорецепторами.

### **Холинорецепторы и их взаимодействие с ацетилхолином**

Под холинорецептором (ХР) понимают участок постсинаптической мембраны, который представляет собой образования, построенные из специфических белков, соответствующих по своей пространственной конфигурации молекулам нейромедиатора. Холинорецепторы в зависимости от чувствительности к холинотропным веществам мускарину или никотину подразделяются на М- и Н-холинорецепторы. Мускарин оказывает возбуждающее действие на периферические М-холинорецепторы. Ввиду того, что он плохо проникает через гемато-энцефалический барьер, центральный эффект мускарина выражен довольно слабо. Никотин оказывает избирательное действие на чувствительные к нему холинорецепторы. В действии никотина на ХР различают две фазы: первую, которая характеризуется стимуляцией передачи возбуждения в никотинчувствительных синапсах, и вторую, при которой наблюдается угнетение возбуждения. Холинотропные вещества неодинаково воздействуют на М- и Н-холинорецепторы. Возможно, что это связано с тем, что М- и Н-холинорецепторы образованы различными по структуре белковыми компонентами. Для взаимодействия с М-холинорецепторами большое значение имеет пространственная конфигурация фармакологических веществ, тогда как на взаимодействие с Н-холинорецепторами стереоизомерия не оказывает существенного влияния.

К веществам, которые возбуждают преимущественно М-холинорецепторы, кроме мускарина относятся: ареколин, оксотреморин, треморин и пилокарпин. К Н-холинотропным веществам помимо никотина относятся такие растительные алкалоиды, как лобелин и цитозин, применяемые в клинике для стимуляции дыхания.

Исследования строения активных центров холинорецепторов



начались сравнительно недавно. В настоящее время полагают, что в составе холинорецептора имеются два активных участка: это анионный участок, который соответствует катионной части ацетилхолина, и эстерофильный участок, вступающий в контакт со сложноэфирной группировкой ацетилхолина (рис. 35). Ме-

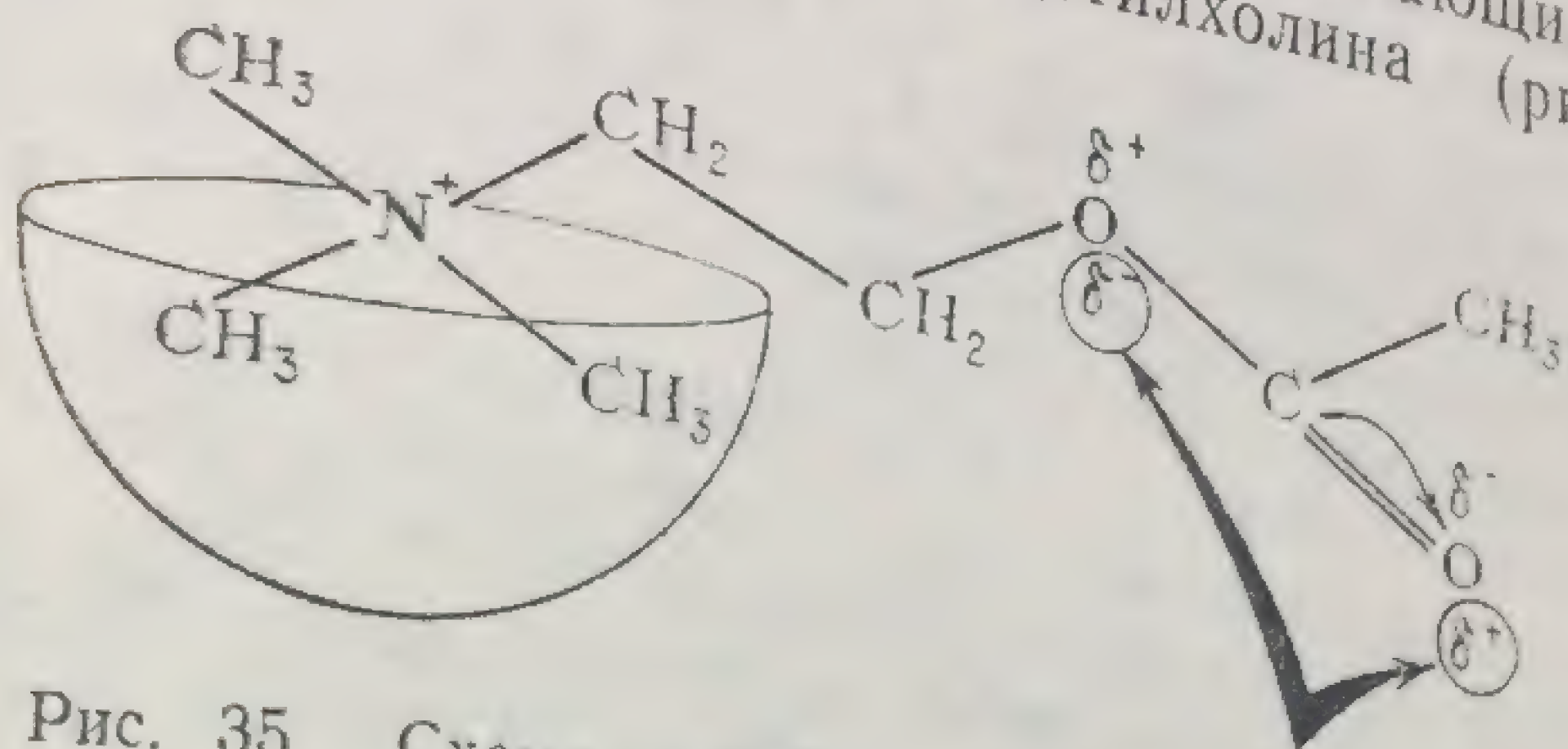


Рис. 35. Схема строения холинорецептора и взаимодействия его с ацетилхолином.

жду этими двумя участками имеется промежуток, равный расстоянию между катионной и эфирной частями ацетилхолина. Это расстояние равно 2,5—3,0 Å или двум метиленовым группам. Анионный участок является более функционально значимым по сравнению с эстеразным участком. В создании отрицательного заряда принимают участие карбоксильные группы та-ких аминокислот, как аспарагиновая и глутаминовая. Сниже-ние положительного заряда у атома азота в молекуле ацетил-холина снижает его медиаторное действие. При замене метиль-ных радикалов на этильные также происходит снижение холи-номиметической активности вплоть до полного исчезновения.

### Ацетилхолинэстераза, свойства и механизм инактивации ацетилхолина

В синаптической щели ацетилхолин подвергается гидролизу с помощью ацетилхолинэстеразы (АХЭ, ацетилгидролаза аце-тилхолина, КФ 3.1.1.7) на холин и уксусную кислоту. АХЭ представляет собой белок с молекулярным весом от  $18 \cdot 10^4$  до  $33 \cdot 10^4$ . Каждая молекула АХЭ состоит из 30—50 активных уча-стков, каждый из которых способен расщеплять от 70.000 до 350.000 молекул АХ в 1 мин. Это число характеризует актив-ность каталитического центра АХЭ. Следовательно, молекула АХЭ в минуту расщепляет от 2 до 17 млн молекул ацетилхо-лина.

Ацетилхолинэстераза относится к числу аллостерических ферментов. В роли аллостерического эффектора выступает есте-ственный субстрат — ацетилхолин, избыток которого снижает активность АХЭ. В последнее время с помощью аффинной хро-матографии из головного мозга удалось выделить три фрак-



начались сравнительно недавно. В настоящее время полагают, что в составе холинорецептора имеются два активных участка — это анионный участок, который соответствует катионной части ацетилхолина, и эстерофильный участок, вступающий в контакт со сложноэфирной группировкой ацетилхолина (рис. 35). Ме-

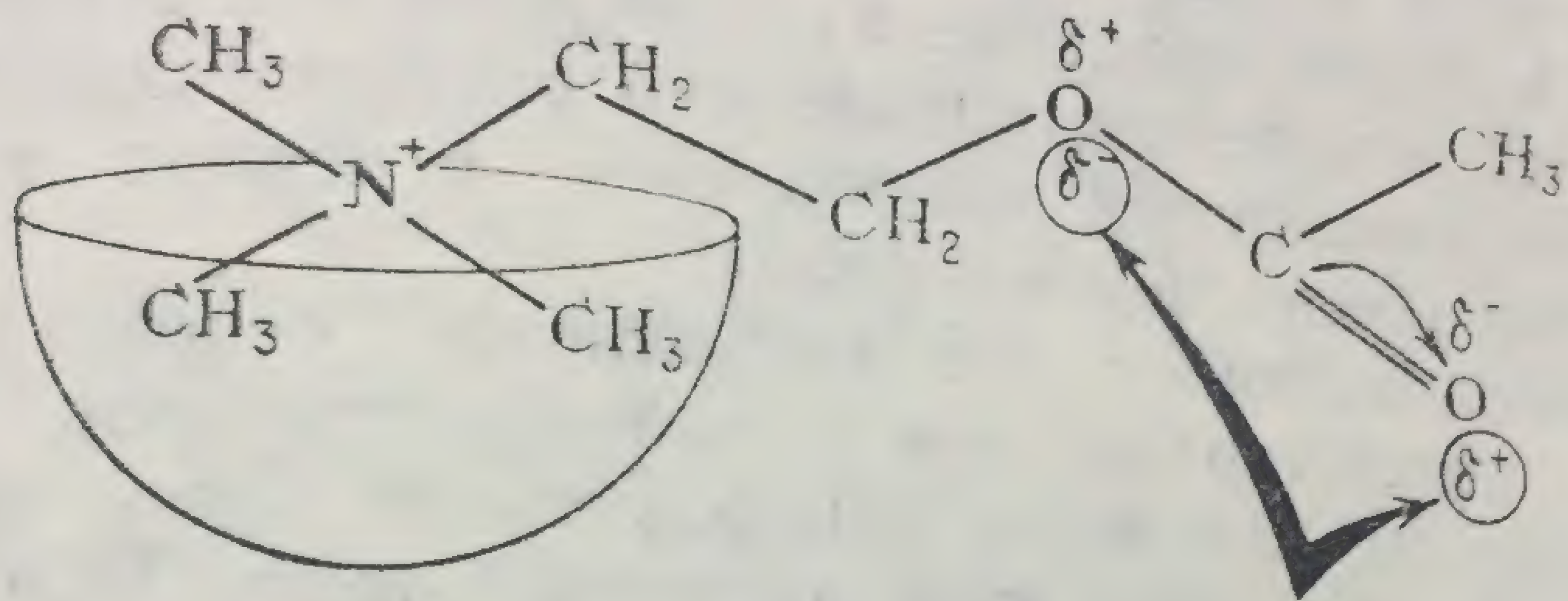


Рис. 35. Схема строения холинорецептора и взаимодействия его с ацетилхолином.

жду этими двумя участками имеется промежуток, равный расстоянию между катионной и эфирной частями ацетилхолина. Это расстояние равно 2,5—3,0 Å или двум метиленовым группам. Анионный участок является более функционально значимым по сравнению с эстеразным участком. В создании отрицательного заряда принимают участие карбоксильные группы таких аминокислот, как аспарагиновая и глутаминовая. Снижение положительного заряда у атома азота в молекуле ацетилхолина снижает его медиаторное действие. При замене метильных радикалов на этильные также происходит снижение холинотропной активности вплоть до полного исчезновения.

### Ацетилхолинэстераза, свойства и механизм инактивации ацетилхолина

В синаптической щели ацетилхолин подвергается гидролизу с помощью ацетилхолинэстеразы (АХЭ, ацетилгидролаза ацетилхолина, КФ 3.1.1.7) на холин и уксусную кислоту. АХЭ представляет собой белок с молекулярным весом от  $18 \cdot 10^4$  до 50 активных уча-



ции АХЭ, которые отличаются не только активностью и чувствительностью к ингибиторам, но и молекулярным весом.

При исследовании активности АХЭ в различных отделах головного мозга оказалось, что наибольшей активностью обладают подкорковые ядра (500—600 мг/г в час). В сером веществе головного мозга активность АХЭ более чем в 10 раз превышает таковую в белом веществе. Установлено, что активность АХЭ увеличивается в ходе постнатального развития животного, наиболее резкое повышение наблюдается в период интенсивной миелинизации (более чем в 4 раза).

Во взаимодействии с АХ проявляется основная функция как ацетилхолинэстеразы, так и холинорецепторов. В связи с этим строение их активных центров имеет много общего. Также как и у холинорецепторов, активный центр АХЭ состоит из двух групп — анионной и эстеразной. Анионная группа, в состав которой входят такие аминокислоты, как аспарагиновая и глутаминовая, осуществляет ориентацию молекулы ацетилхолина относительно эстеразной группы АХЭ. В отличие от холинорецепторов в АХЭ основную функциональную нагрузку несет эстеразная группировка. Анионная и эстеразная группировки находятся друг от друга на расстоянии 2,5 Å (рис. 36). Помимо

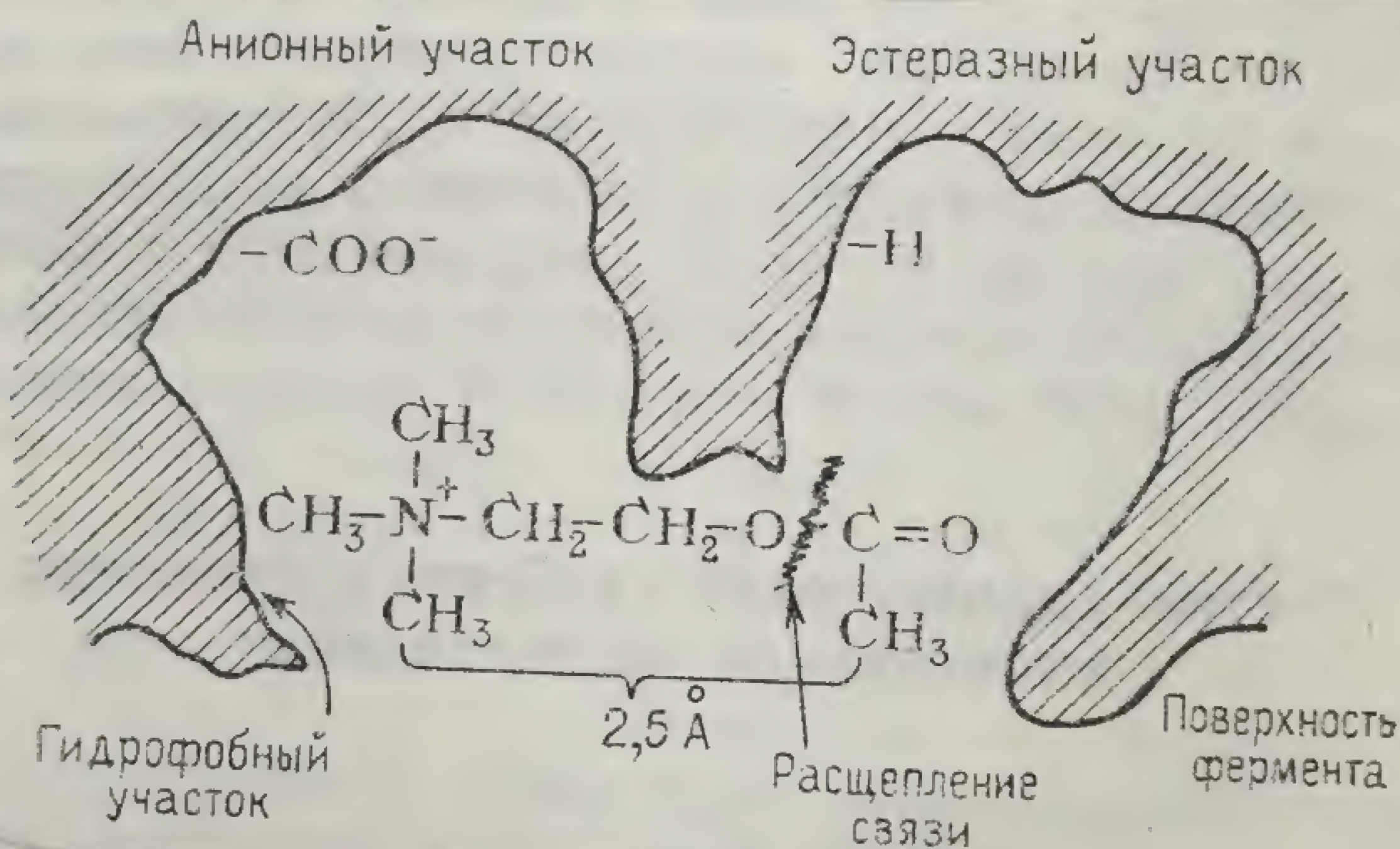


Рис. 36. Схема взаимодействия активного участка ацетилхолинэстеразы с ацетилхолином.

этих двух группировок в активном центре АХЭ имеются гидрофобные участки, которые осуществляют фиксацию АХ на поверхности фермента.

Гидролитическое расщепление ацетилхолина протекает следующим образом: катионная часть АХ в результате электростатического притяжения соединяется с анионным участком АХЭ, и молекула АХ ориентируется определенным образом относительно активного центра фермента. Взаимодействие сложноефирной группировки АХ с эстеразной группировкой АХЭ приводит к образованию фермент-субстратного комплекса, который далее расщепляется на ацетилированный фермент и холин.



взаимодействии с АХ проявляется основная функция ацетилхолинэстеразы, так и холинорецепторов. В связи со строением их активных центров имеет много общего. Так и у холинорецепторов, активный центр АХЭ состоит из двух групп — анионной и эстеразной. Анионная группа, в которой входят такие аминокислоты, как аспарагиновая, глутаминовая, осуществляет ориентацию молекулы ацетилхолина относительно эстеразной группы АХЭ. В отличие от холинорецепторов в АХЭ основную функциональную нагрузку несет эстеразная группировка. Анионная и эстеразная группировки находятся друг от друга на расстоянии 2,5 Å (рис. 36). Помимо

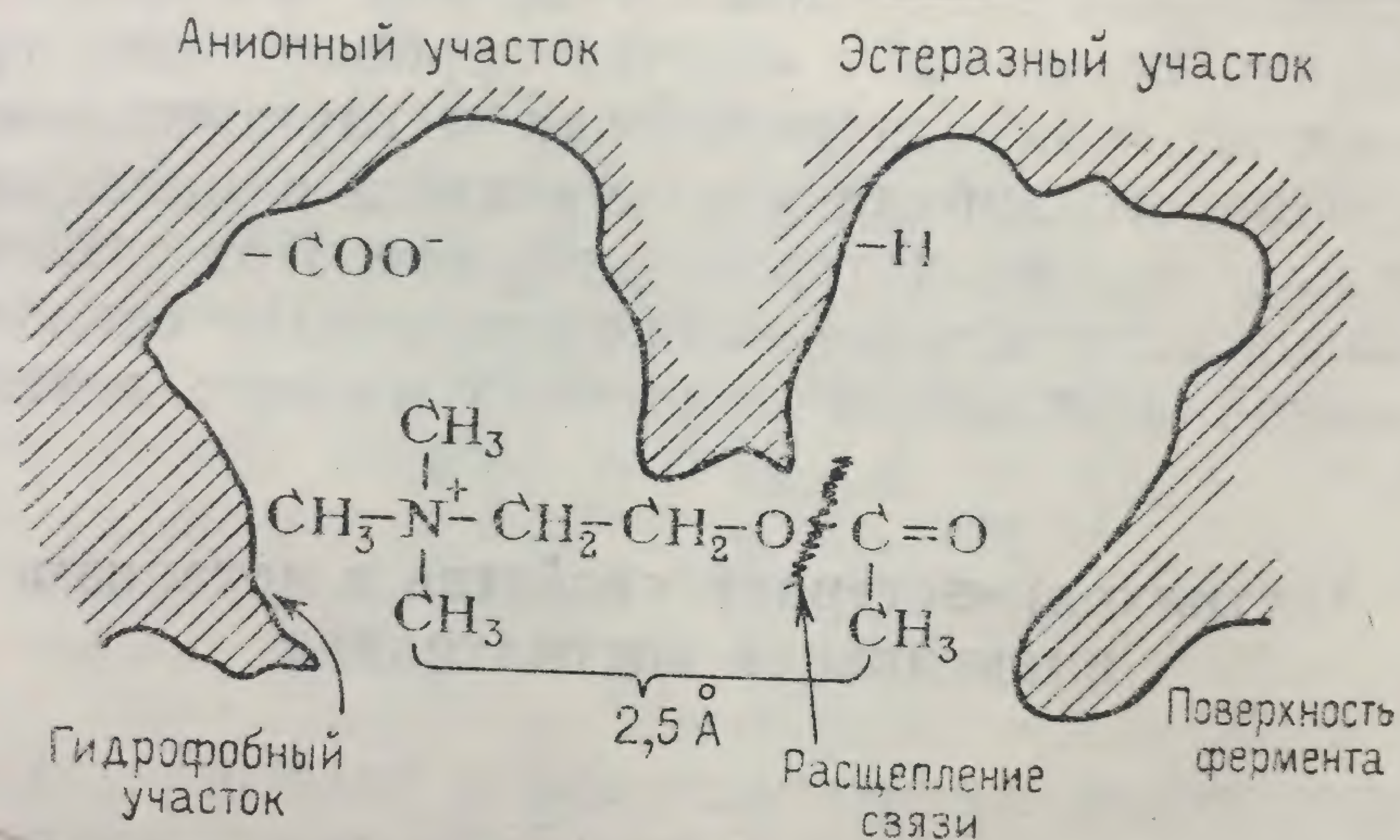


Рис. 36. Схема взаимодействия активного участка ацетилхолинэстеразы с ацетилхолином.

Двух группировок в активном центре АХЭ имеются гидрофобные участки, которые осуществляют фиксацию АХ на поверхности фермента.

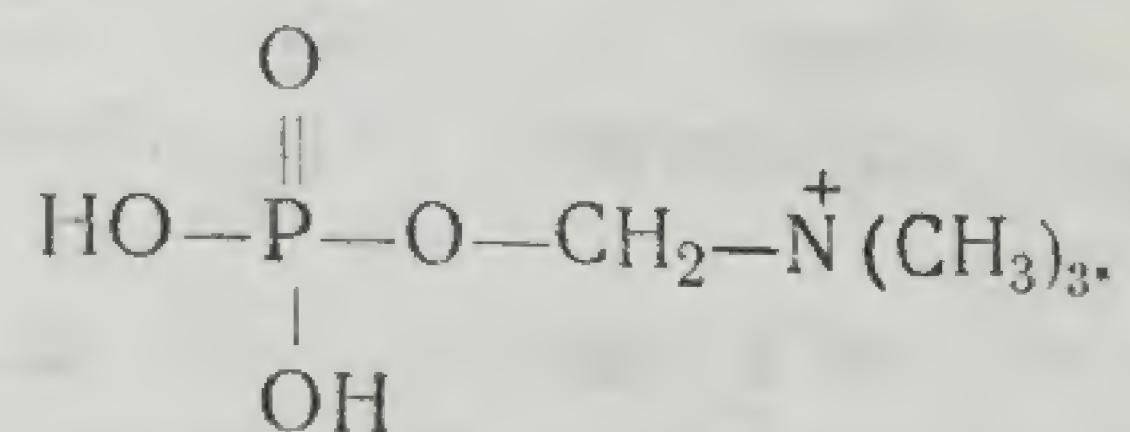
Каталитическое расщепление ацетилхолина протекает следующим образом: катионная часть АХ в результате электростатического притяжения соединяется с анионным участком, и молекула АХ ориентируется определенным образом относительно активного центра фермента. Взаимодействие слож-



В свою очередь ацетилированный фермент гидролизуетс водой на уксусную кислоту и свободный фермент.

В настоящее время считают, что в структуре АХЭ при взаимодействии с АХ происходят конформационные изменения. К взаимодействию АХЭ с ацетилхолином, по-видимому, можно приложить положение о том, что активные центры фермента не существуют в готовом виде, а образуются в момент взаимодействия субстрата с ферментом в результате конформационной перестройки третичной структуры. Такие же процессы должны происходить и в холинорецепторе, для того чтобы он имел возможность вступить во взаимодействие с АХ или другими холинэргическими веществами.

Исходя из современных положений о строении мембраны предложена гипотеза о механизме действия АХ, согласно которой взаимодействие медиатора с компонентами мембраны приводит к конформационным изменениям АХЭ и к повышению проницаемости мембраны для ионов. В тех участках мембраны, где наблюдается особо высокая чувствительность к АХ, липидным компонентом в мембране является фосфатидилхолин, который связан с белковым слоем своей полярной группировкой — фосфорилхолином



Как видно, фосфорилхолин и ацетилхолин близки по своему химическому строению, благодаря этому АХ конкурирует с фосфатидилхолином за соединение с белком. Образование связи АХ с белком влечет за собой конформационные изменения в белковой молекуле. При этом происходит разрыв связи белка с фосфатидилхолином, которая осуществляется через ионы  $\text{Ca}^{2+}$ . Кальций замещается одновалентными ионами  $\text{K}^+$ , и тем самым повышается проницаемость мембраны для этих ионов. Следует подчеркнуть, что процессы как пассивного, так и активного транспорта одновалентных ионов и кальция сопряжены и взаимообусловлены, поскольку имеются экспериментальные данные о том, что транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  через мембраны головного мозга осуществляется с помощью  $\text{Ca}-\text{Na}$ -обмена.

Таким образом, основной функцией АХ в ЦНС является участие в регуляции процессов возбуждения в качестве медиатора. Экспериментально установлено, что АХ локализован в пресинаптических терминалях и поступает в синаптическую щель при прохождении нервного импульса. Нейромедиаторное действие АХ осуществляется путем взаимодействия с рецепторами, находящимися на постсинаптической мембране, а также за счет ферментативной системы, которая участвует в биосинтезе и инактивации ацетилхолина.



## 8.2. БИОГЕННЫЕ АМИНЫ

Исследование функциональной роли биогенных аминов представляет собой одну из важнейших проблем биохимии, физиологии и практической медицины. Это обусловлено тем, что в организме они выполняют целый ряд функций, участвуя в регуляции сложных метаболических процессов в клетках, а также как нейромедиаторы принимают непосредственное участие в изменении проницаемости мембран и проведении нервного импульса.

К числу биогенных аминов относятся: дофамин (3,4-диоксифенилэтиламин, окситирамин), норадреналин (3,4-диоксифенил-оксиэтиламин, норэпинефрин, артеренол, аминоэтанолпирокатехин, НА), адреналин (3,4-диоксифенил-оксиметилэтиламин, эпинефрин, метиламиноэтанолпирокатехин, А), которые называются также пирокатехиновыми аминами, или катехоламинами, и серотонин (5-гидрокситриптамин).

### Катехоламины

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что катехоламины (КА), находясь в незначительных количествах в головном мозгу, распределены в различных структурах мозга крайне неравномерно.

В настоящее время установлено, что основным нейромедиатором адренэргической системы являются норадреналин (НА) и дофамин, а не адреналин, как полагали ранее. Из табл. 37

Таблица 37

Содержание норадреналина дигидрооксифенилаланина (дофа) в различных отделах головного мозга, мкг/г ткани (Segawa e. a., 1975; Lingvist e. a., 1975)

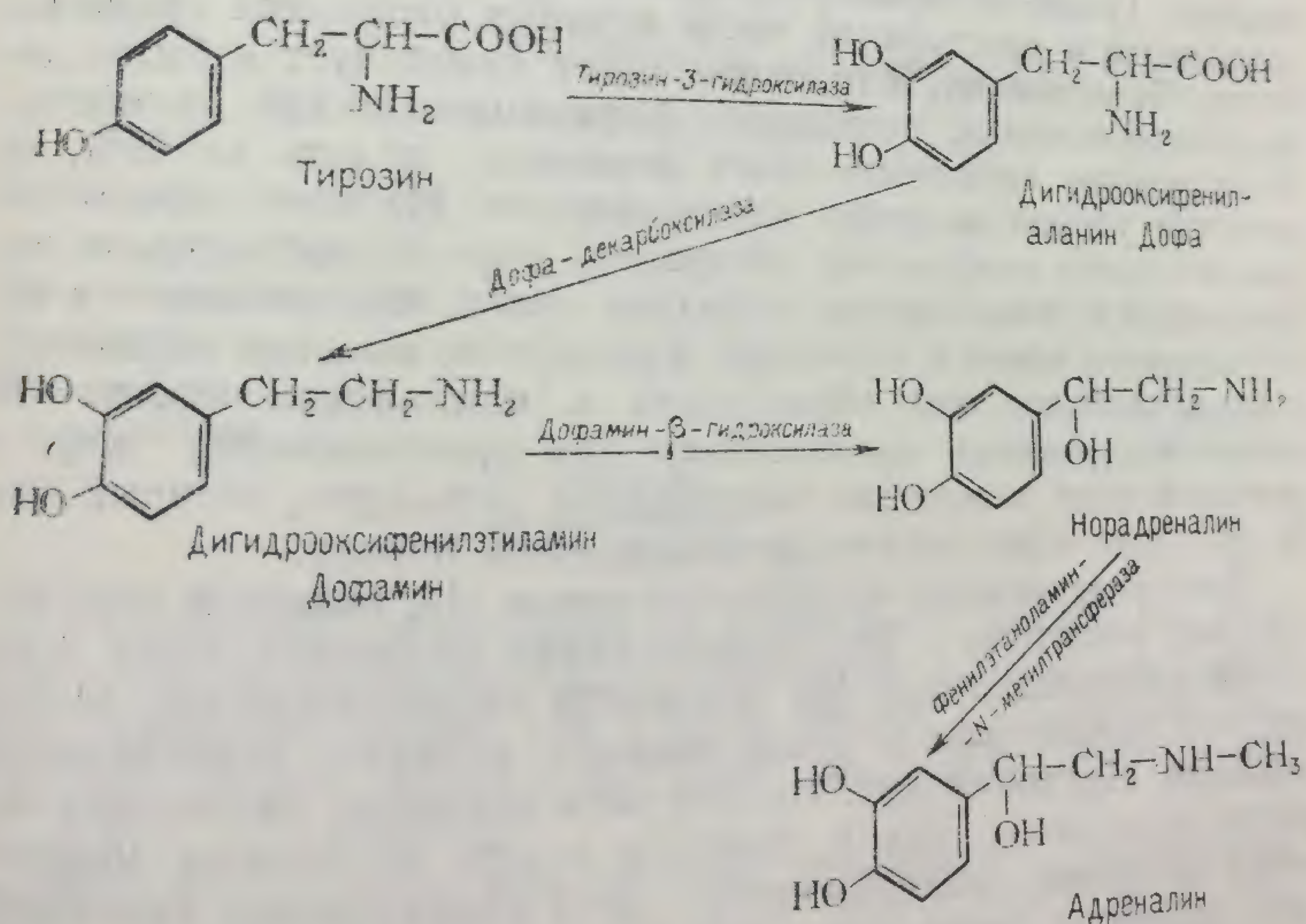
Отдел мозга	Норадреналин	Дофамин	Дофа
Целый мозг	0,443	0,915	0,009
Передний мозг	0,435	1,900	0,011
Задний мозг	0,335	0,300	0,007
Кора головного мозга	0,100	—	—
Гипоталамус	1,000	2,250	—
Лимбический мозг	0,300	1,350	—
Средний мозг	0,370	0,190	—
Продолговатый мозг	0,750	0,350	—
Мозжечок	0,250	0,250	—

видно, что наибольшее количество норадреналина и дофамина сосредоточено в гипоталамусе, наименьшее содержание НА обнаружено в коре головного мозга. Следует отметить, что в одних и тех же отделах концентрация дофамина, как правило, превы-



шает концентрацию НА, исключение составляет продолговатый мозг, где содержание НА почти в 2 раза выше, чем дофамина. Биосинтез катехоламинов в основном протекает в теле нервной клетки с последующим транспортом их с помощью аксонального тока в нервные окончания и поступлением в везикулы. Показано, что запасы НА в везикулах представлены по крайней мере двумя формами: прочносвязанной и лабильносвязанной. Прочносвязанный НА является запасным и освобождается из везикул под влиянием различных воздействий. Он практически определяет общее содержание НА в головном мозгу. Лабильносвязанный НА составляет 10—15% от общего количества НА и представляет собой функционально активную форму НА, которая принимает участие в проведении нервного импульса. Эта форма в отличие от первой характеризуется высокой скоростью метаболизма. Кроме этих двух имеется еще одна цитоплазматическая форма, незначительная по объему, но интенсивно метаболизирующая. Полагают, что лабильносвязанная форма НА восполняется за счет распада прочносвязанного НА, поглощения цитоплазматического НА и процессов биосинтеза.

Предшественником катехоламинов, как известно, является аминокислота тирозин, гидроксилирование которой происходит с участием фермента тирозин-3-гидроксилазы (L-тирозин, тетрагидроптеридин: кислород-оксиредуктаза, КФ 1.1.4), что приводит к образованию катехоламинов по схеме



Тирозин-3-гидроксилаза находится в восстановленной форме, и для активности данного фермента необходимо наличие ионов



железа. Этот фермент характеризуется субстратной специфичностью, он может гидроксилировать фенилаланин, причем, только *l*-тирозин, но не *d*-тирозин. Реакция образования дигидрооксифенилаланина является наиболее медленной реакцией в биосинтезе катехоламинов, поэтому она определяет скорость биосинтеза катехоламинов. Активность тирозин-3-гидроксилазы регулируется концентрацией НА. Наибольшая активность этого фермента обнаруживается в гипоталамусе, наименьшая — в мозжечке. При анализе субклеточных фракций показано, что наибольшей тирозингидроксилазной активностью обладает фракция синапсом.

Экспериментальные данные, полученные в последние годы, позволяют заключить, что в нервных окончаниях начальная стадия биосинтеза катехоламинов протекает не в синаптических везикулах, а в цитоплазме.

Следующий этап биосинтеза катехоламинов — декарбоксилирование дигидрооксифенилаланина в дофамин — катализируется ферментом дофа-декарбоксилазой (3,4-диокси-фенилаланин-карбоксилаза, КФ 1.1.2.6), который относится к группе пиридоксальных ферментов и принимает участие в метаболических превращениях не только дофа, но и 5-гидрокситриптофана, фенилаланина, триптофана, гистидина и других ароматических аминокислот. В соответствии с этим данный фермент имеет более широкое название «декарбоксилаза ароматических аминокислот». Подобно тирозин-3-гидроксилазе дофа-декарбоксилаза содержится в растворимой части нервных окончаний головного мозга. По-видимому, в головном мозгу существует избыток дофа-декарбоксилазы, поскольку фармакологические вещества, блокирующие активность этого фермента вплоть до 95%, не снижают уровня мозговых катехоламинов. Из всех отделов головного мозга наибольшая активность дофа-декарбоксилазы наблюдается в гипоталамусе и среднем мозгу, наименьшая — в коре головного мозга и мозжечке. Кроме того, высокая активность дофа-декарбоксилазы обнаружена в капиллярах мозга, что является серьезным препятствием для проникновения дофа в головной мозг вследствие образования дофамина, который слабо проходит через гемато-энцефалический барьер.

Непосредственным предшественником НА является дофамин, который участвует в функционировании головного мозга в качестве нейромедиатора. На основании гистохимических данных сделано заключение о существовании везикул, депонирующих дофамин. Предполагают, что дофамин тормозит активность нейронов полосатого тела и является также тормозным медиатором в экстрапирамидной системе, хотя убедительных биохимических данных в отношении этого до сих пор не получено.

Гидроксилирование дофамина при  $\beta$ -углеродном атоме до НА осуществляется ферментом дофамин- $\beta$ -гидроксилазой. Полагают, что этот фермент локализован внутри везикул, которые

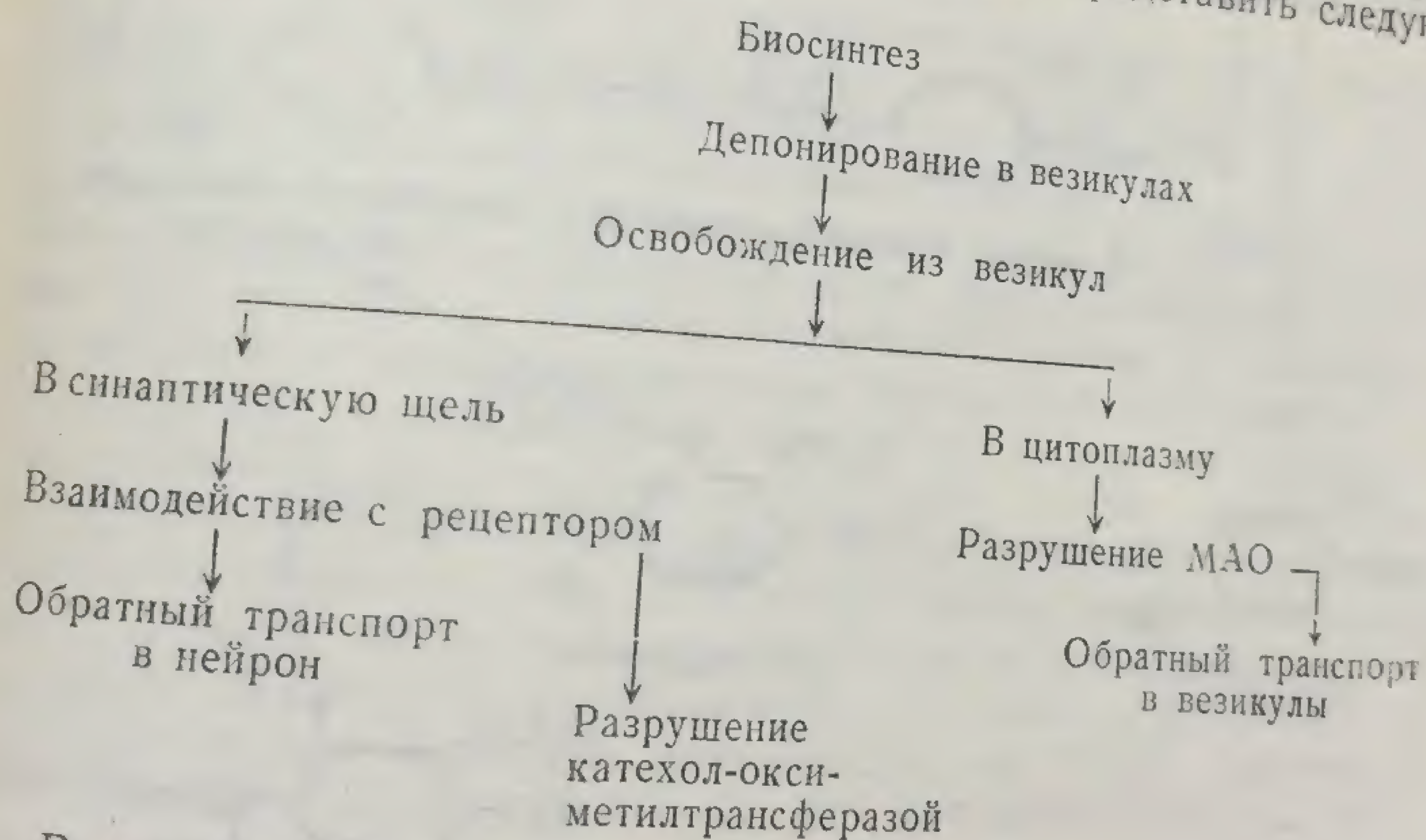


содержат катехоламины, и для проявления активности требует присутствия АТФ, НАД, НАДФ и ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Заключительный этап биосинтеза катехоламина — метилирование НА в адреналин — протекает при участии фермента фенилэтанол-амин-N-метилтрансферазы (ФНМТ). Эта реакция осуществляется переходом вещества с ярко выраженными нейромедийными свойствами — норадреналина — в адреналин, который является типичным гормоном. Донором метильных групп является аденозилметионин. Содержание фенилэтанол-амин- $\beta$ -метилтрансферазы в головном мозгу незначительно, и процесс биосинтеза адреналина протекает настолько слабо, что правомочно заключение о невозможности синтеза адреналина в мозгу.

### Участие моноаминоксидазы в превращениях катехоламинов

Метаболизм катехоламинов в ЦНС изучен довольно подробно, он состоит из процессов биосинтеза, транспорта и депонирования в везикулах, освобождения и взаимодействия с рецептором, инактивации, а также обратного транспорта. Общую схему превращений катехоламинов можно представить следующим образом:



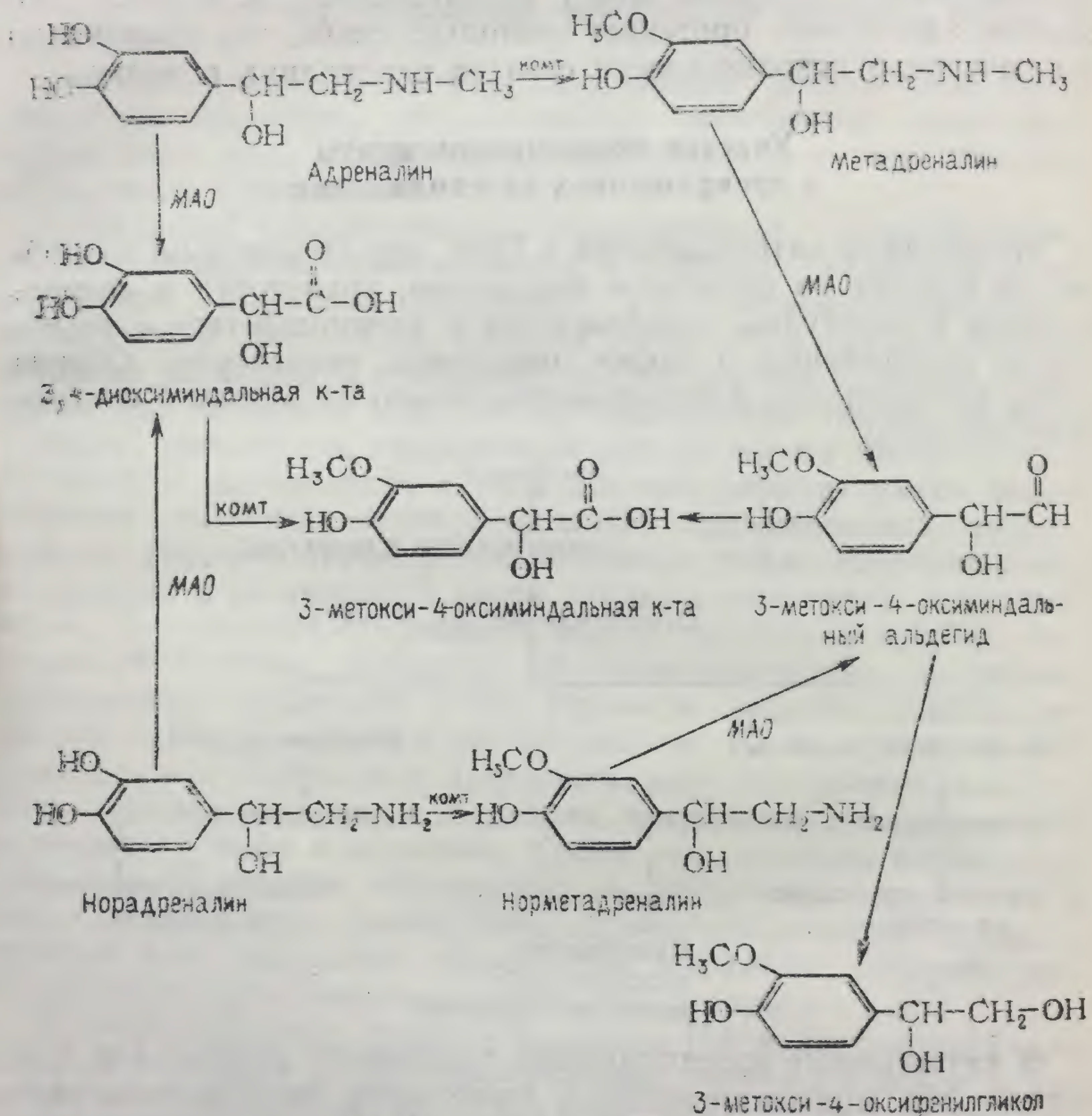
В катаболизме катехоламинов принимают участие два фермента — это моноаминоксидаза (моноамин: кислород-оксиредуктаза, дезаминирующая; КФ 1.4.3.4) (МАО) и катехол-оксиметилтрансфераза (аденозилметионин: катехол-О-метилтрансфераза, КФ 2.1.1.6) (КОМТ).

Моноаминоксидаза, как известно, относится к ферментам, широко распространенным в природе. Достаточно сказать, что он обнаруживается не только во всех тканях высших и низших животных, но также в растениях и бактериях. Данные о локализации МАО в ЦНС совпадают с содержанием биогенных ами-



нов в различных структурах головного мозга. Наибольшая активность МАО обнаружена в гипоталамусе, наименьшая — в коре головного мозга (см. табл. 37).

При участии моноаминоксидазы осуществляется окислительное дезаминирование катехоламинов. Как видно из представленной ниже схемы, конечным продуктом при дезаминировании дофамина является 3,4-диоксифенилуксусная кислота, а при дезаминировании НА и адреналина — 3,4-диоксиминдальная кислота:



Кроме того, МАО не только инактивирует катехоламины, но и катализирует образование продуктов, обладающих также биологической активностью. По-видимому, МАО способствует поддержанию определенного уровня биогенных аминов в нервных окончаниях, и в этом заключается ее функциональная роль в процессах синаптической передачи.



При исследовании субстратной специфичности установлено, что наибольшим сродством к моноаминоксидазе обладают первичные и вторичные амины, слабее третичные, а четвертичные амины практически не катализируются. Одним из лучших субстратов является дофамин, тогда как НА и А имеют меньшее сродство к МАО. Следует отметить, что субстратная специфичность МАО различается в зависимости от вида животного. Так, например, МАО, выделенная из головного мозга грызунов (крысы и мыши), имеет меньшее сродство к серотонину, чем МАО из

На основании данных электрофоретического разделения митохондриальной фракции головного мозга человека и крысы выявлены 4 формы МАО, которые различаются по оптимальному рН, чувствительности к ингибиторам и сродству к субстратам, в частности к дофамину. В процессе онтогенеза наблюдаются изменения в количестве множественных форм МАО, причем в головном мозгу новорожденных крыс обнаружено только две фракции МАО. При иммунологическом изучении моноаминоксидазы показано, что 80% МАО митохондрий головного мозга идентичны по структуре и свойствам этому же ферменту митохондрий печени, и только 20% являются специфическими МАО

Оксиметилирование катехоламинов протекает при участии фермента катехол-О-метилтрансферазы, который вместе с МАО играет важную роль в инактивации катехоламинов. В отличие от МАО, которая катализирует окислительное деаминарование КА внутри пресинаптического пространства, КОМТ разрушает катехоламины в синаптической щели. Процесс оксиметилирования заключается в переносе метильной группы от S-аденозилметионина на метагидроксильную группу катехоламинов. О-метилирование катехоламинов зависит не только от наличия в ткани КОМТ, но и от способности этой ткани образовывать S-аденозилметионин. В головном мозгу синтез S-аденозилметионина осуществляется из АТФ и метионина довольно интенсивно, и поэтому имеются все условия для метилирования катехоламинов. Катехол-О-метилтрансфераза имеет наибольшую активность в гипоталамусе, наименьшую — в белом веществе коры головного мозга. Показано, что катехол-О-метилтрансфераза, выделенная из головного мозга, имеет изоферментный спектр, идентичный КОМТ, выделенной из печени, почек и сердца крысы. Исследование клеточной локализации КОМТ позволило заключить, что около 30% активности фермента связано с «грубой» митохондриальной фракцией. При последующем ультрацентрифугировании в градиенте плотности сахарозы обнаружено, что значительная часть активности фермента находится в связанном состоянии в синапсосамах, так как обработка детергентами приводит к открытию дополнительной активности.



Таким образом, рассмотренные два фермента обеспечивают основные направления в метаболизме катехоламинов, а именно окислительное дезаминирование и трансметилирование. Однако в настоящее время нет единого мнения относительно роли этих ферментов в инактивации катехоламинов. Показано, что при дезаминировании, так же как и при трансметилировании образуются продукты, которые являются физиологически активными. В то же время накопление О-метильных производных в организме приводит к патологическим нарушениям в функциональной деятельности ЦНС.

Фармакологические вещества могут оказывать влияние на содержание катехоламинов в ЦНС различными способами: усиливая их освобождение из пресинаптических хранилищ с участием резерпина, облегчая или затрудняя их биосинтез с помощью дофа,  $\alpha$ -метилдофа,  $\alpha$ -метилтирозина и дисульфирана, а также под влиянием ингибиторов МАО, таких как ипразид,  $\alpha$ -метилтриптамин и др.

Действие катехоламинов как нейромедиаторов осуществляется посредством их взаимодействия с адренорецепторами, которое приводит к изменению функционального состояния. В общих чертах механизм адренергической реакции сходен с механизмом действия ацетилхолина. На основании применения фармакологического анализа веществ, которые избирательно ингибируют возбуждающие или тормозящие эффекты КА, различают  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторы. Возбуждение  $\alpha$ -рецепторов сопровождается усилением функций, напротив, возбуждение  $\beta$ -рецепторов влечет за собой угнетение функций. Считают, что адренорецепторы являются липопротеидами, которые близки по свойствам к ферментным белкам.

В последние годы определенное место в объяснении механизмов действия катехоламинов отводится цАМФ. Ряд авторов полагает, что все  $\alpha$ -адренергические эффекты сопровождаются повышением содержания цАМФ, тогда как  $\beta$ -рецепторное воздействие приводит к снижению уровня цАМФ. Однако выдвигаемая гипотеза о связи цАМФ с механизмами нейромедиаторного действия катехоламинов экспериментально не подтверждена, напротив, установлено, что распределение цАМФ в отделах головного мозга не совпадает с количественным распределением катехоламинов.

Итак, полученные к настоящему времени экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в головном мозгу катехоламины выступают в качестве нейромедиаторов. Эти данные можно свести к следующему: катехоламины присутствуют в терминалях многих центральных нейронов; установлено, что в мозговой ткани имеются ферменты, участвующие в регуляции метаболизма катехоламинов, такие как тирозин-3-гидроксилаза, дофа-декарбоксилаза, дофамин- $\beta$ -гидроксилаза, моноаминоксидаза и др.; фармакологические вещества, которые оказывают



определенное влияние на содержание КА в периферических окончаниях симпатических нервов (резерпин, ингибиторы МАО,  $\alpha$ -метилтирозин), вызывают аналогичные изменения в адренергических структурах головного мозга.

### 8.3. СЕРОТОНИН И ЕГО УЧАСТИЕ В ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Серотонин (5-окситриптами) принимает участие в регуляции функциональной деятельности головного и спинного мозга, двигательной, сердечно-сосудистой, эндокринной и других физиологических систем. Содержание серотонина (в мкг/г ткани) следующее (Segawa e. a., 1975; Hogg, Both, 1976):

Целый мозг . . . . .	0,320
Передний мозг . . . . .	0,360
Серое вещество . . . . .	0,270
Белое вещество . . . . .	0,130
Гиппокамп . . . . .	0,320
Задний мозг . . . . .	0,250
Промежуточный мозг . . . . .	0,630
Гипоталамус . . . . .	1,700
Таламус . . . . .	0,570
Средний мозг . . . . .	1,000
Продолговатый мозг . . . . .	0,650
Ствол . . . . .	0,780
Мозжечок . . . . .	0,100

Из приведенных данных следует, что в наибольшей концентрации серотонин обнаружен в гипоталамусе и среднем мозгу, где его содержание достигает 1,7 и 1,0 мкг/г ткани. Наименьшее количество его (до 0,1 мкг/г) выявлено в мозжечке. Концентрация серотонина в сером веществе головного мозга почти в 2 раза выше, чем в белом веществе.

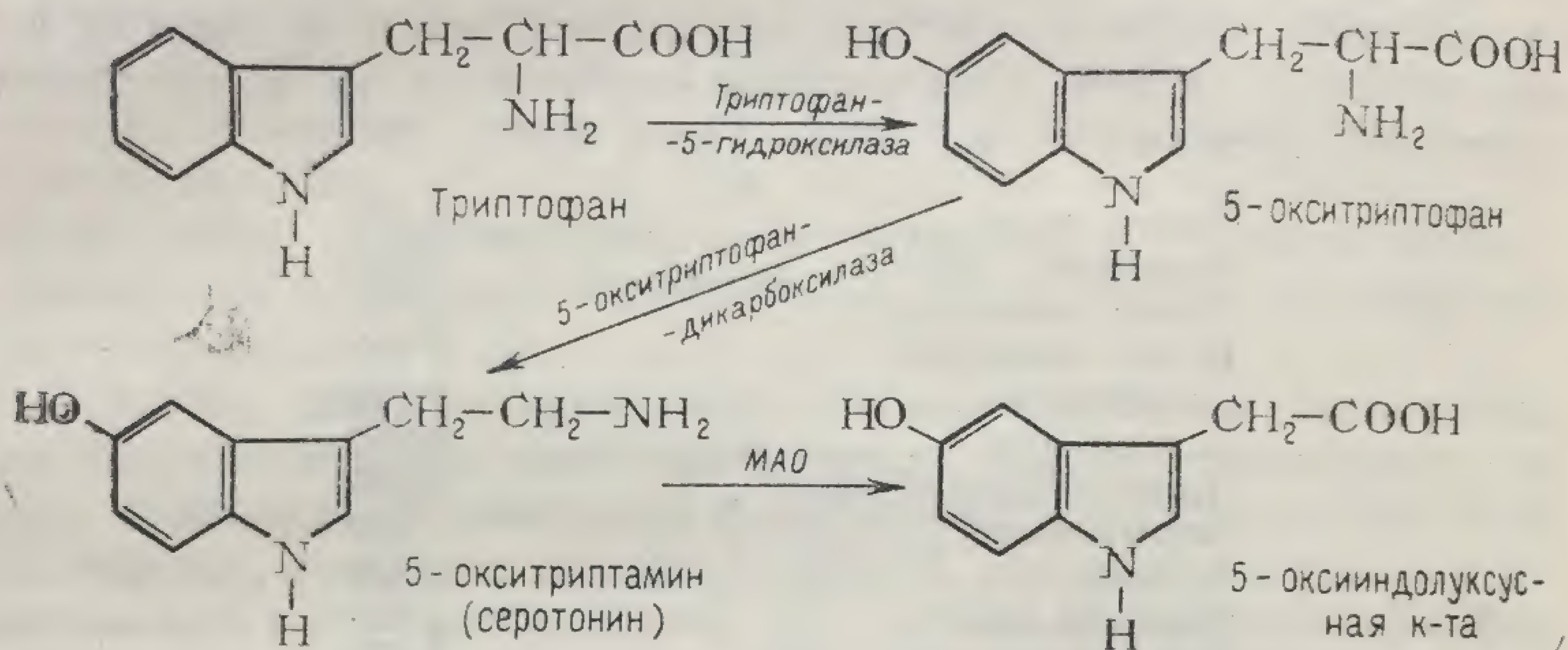
В настоящее время усилиями фармакологов, физиологов и биохимиков накоплен значительный экспериментальный материал о роли серотонина в процессах регуляции физиологических функций. Введение серотонина вызывает у животных нарушение в координации движений, ступорное состояние и явление каталепсии. Исследования связи серотонина с поведенческими реакциями показали, что при снижении его содержания в мозгу увеличивается агрессивность животного. Исходя из этих данных сделано заключение о противоположном воздействии на ЦНС катехоламинов и серотонина, поскольку при увеличении содержания катехоламинов в головном мозгу наблюдается повышение агрессивности животных.

Несомненный интерес представляют данные о влиянии серотонина на процессы сна. При снижении концентрации серотонина введением *л*-хлорфенилаланина наблюдается устойчивая бессонница, которая снимается при введении 5-окситриптофана — непосредственного предшественника серотонина.



отметить, что 5-окситриптофан восстанавливает медленноволновую фазу сна, в то время как предшественник катехоламинов—дофа—восстанавливает парадоксальную фазу.

Биосинтез серотонина осуществляется из аминокислоты триптофана с участием ферментов триптофан-5-гидроксилазы и 5-окситриптофандекарбоксилазы. В связи с тем, что гидроксилирование триптофана является наиболее медленной реакцией в цикле образования серотонина, она определяет общую скорость биосинтеза серотонина:



Каталитические свойства триптофан-6-гидроксилазы не изучены так подробно, как свойства тирозин-3-гидроксилазы. Известно, что для участия в гидроксилировании триптофана фермент в головном мозгу требует наличия тетрагидроптеридинового кофактора и НАДФН<sub>2</sub>. До сих пор не установлена зависимость между активностью триптофан-5-гидроксилазы и функциональным состоянием, хотя при этом происходят значительные изменения в содержании серотонина. Интенсивность образования серотонина снижается под воздействием *n*-хлорфенилаланина, который угнетает активность триптофан-5-гидроксилазы, блокируя синтез серотонина на стадии гидроксилирования триптофана.

Образование серотонина из 5-окситриптофана катализируется ферментом 5-окситриптофандекарбоксилазой. На основании субстратной специфичности, а также результатов иммунохимического анализа высказывается мнение об идентичности 5-окситриптофандекарбоксилазы и дофа-декарбоксилазы, и полагают что декарбоксилирование дофа и 5-окситриптофана происходит при участии одного фермента. Однако появившиеся в последние годы экспериментальные данные свидетельствуют о том, что эти два фермента, выделенные из головного мозга, имеют различные оптимумы pH и температуры, а также для них характерна разная субклеточная локализация. Так, при ультрацентрифугировании обнаружено, что 5-окситриптофанде-



карбоксилаза связана с синаптосомальной фракцией, тогда как наибольшая дофа-декарбоксилазная активность определена в супернатанте. Согласно этим данным декарбоксилирование 5-окситриптофана и дофа протекает при участии двух различных ферментов.

Инактивация серотонина в основном осуществляется путем окислительного дезаминирования с участием моноаминоксидазы, конечным продуктом является биологически неактивное соединение 5-оксииндолуксусная кислота.

На основании данных о распределении и содержании серотонина в структурах головного мозга, о существовании ферментативных систем биосинтеза и распада, а также о субклеточной локализации этих систем и воздействиях серотонина на ЦНС, было высказано предположение о его нейромедиаторной роли. Она осуществляется в результате взаимодействия серотонина со специфическими серотонинэргическими рецепторами. Предполагают, что эти рецепторы представляют собой ганглиозиды, так как обработка нейраминидазой предотвращает взаимодействие серотонина с рецептором.

При анализе действия серотонина как нейромедиатора следует учитывать, что серотонинэргические системы головного мозга тесно переплетаются с другими системами мозга, в частности с адренэргической и холинэргической. Эта связь носит более функциональный характер, чем анатомический.

#### 8.4. ГАММА-АМИНОМАСЛЯНАЯ КИСЛОТА

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в мозгу высших млекопитающих нейромедиатором, выполняющим тормозные функции, является гамма-аминомасляная кислота (ГАМК). Доказательством ее нейромедиаторной роли служит распределение как самой ГАМК, так и синтезирующего ее фермента глутаматдекарбоксилазы в нервных структурах, связанных с процессами торможения. Кроме того, имеется система инактивации и обратного транспорта ГАМК в синаптической щели; при ионофоретическом введении ГАМК наблюдается развитие тормозного постсинаптического потенциала, который снимается фармакологическими антагонистами ГАМК, такими как пикротоксин и бикикуллин.

Содержание ГАМК (в мкг/г ткани) в различных отделах головного мозга по данным Fahn, Cötc (1968), Rzlalic e. a. (1962) даны ниже:

Черная субстанция . . . . .	1000
Бледный шар . . . . .	978
Гипоталамус . . . . .	618
Таламус . . . . .	463
Хвостатое ядро . . . . .	329
Гиппокамп . . . . .	391



Наибольшее количество ГАМК обнаружено в черной субстанции, бледном шаре и гипоталамусе. По содержанию в различных отделах головного мозга ГАМК во много раз превышает другие нейромедиаторы. Так, в гипоталамусе суммарное содержание ацетилхолина, норадреналина, дофамина и серотонина не превышает 10 мкг/г, в то время как содержание ГАМК в этом отделе головного мозга составляет 618 мкг/г ткани. Процесс инактивации ГАМК связан с действием фермента ГАМК-трансферазы (4-аминобутират : 2-оксиглутарат-амино-трансфераза, КФ 2.6.1.19), который катализирует обратимую реакцию с образованием глутаминовой кислоты и янтарного полуальдегида. Помимо этого, для ГАМК показан обратный транспорт в пресинаптические окончания, где она сохраняется для последующего освобождения, поскольку в пресинаптических окончаниях активность ГАМК-трансферазы незначительна.

Участие ГАМК в процессах торможения в качестве медиатора основано на ее взаимодействии с фосфолипидными компонентами постсинаптической мембраны. Для соединения ГАМК с рецептором необходима определенная пространственная конфигурация и рецептора и ГАМК. В частности, чтобы наблюдалось тормозное действие, необходимо наличие свободных как аминно-, так и карбоксильных групп; замещенные аналоги ГАМК не обладают значительным физиологическим эффектом. Кроме того, расстояние между аминной и карбоксильной группами должно быть не более 4—6 Å, так как, по-видимому, оно соответствует расстоянию между точками приложения нейромедиатора в активном центре рецептора. Предполагается, что рецептор активируется тремя молекулами ГАМК, при этом одна молекула ориентирует и изменяет пространственную конфигурацию рецептора, обеспечивая таким образом присоединение еще двух молекул ГАМК.

Кроме постсинаптического торможения ГАМК принимает участие в пресинаптическом торможении, угнетая секрецию ацетилхолина из пресинаптической мембраны, тем самым уменьшая количество квантов на один импульс. Наряду с этим, имея в виду сходное химическое строение с АХ, ГАМК может вступать в конкуренцию с ним за рецепторные участки на постсинаптической мембране.

#### 8.5. АМИНОКИСЛОТЫ — ВОЗМОЖНЫЕ НЕЙРОМЕДИАТОРЫ ЦНС

В настоящее время предполагается, что помимо ГАМК в роли тормозного нейромедиатора в ЦНС может выступать ряд аминокислот.

Глицин. Основанием послужили данные по ионофоретическому введению глицина и по его распределению в тормозных



нейронах. Ингибирующее действие глицина было обнаружено в клиновидных нейронах и других зонах спинного мозга, где его действие по силе и характеру не отличается от действия ГАМК. В то же время в коре головного мозга участие глицина как нейромедиатора выражено значительно слабее и составляет 1/20 действия ГАМК при одинаковых концентрациях. При исследовании действия глицина на мембранный потенциал и проводимость спинальных мотонейронов установлено, что он вызывает гиперполяризацию, одновременно с которой происходит уменьшение сопротивления мембраны за счет отчетливого увеличения ее проницаемости для ионов  $\text{Cl}^-$ . Предполагается, что механизм торможения глицином не отличается от механизма торможения ГАМК, однако прямых биохимических доказательств связи глицина с функцией нейромедиатора торможения в ЦНС не получено.

Глутаминовая кислота является одним из вероятных нейромедиаторов возбуждения в ЦНС позвоночных. Деполаризирующее влияние ее при ионтофоретическом введении напоминает действие, вызываемое возбужденными нейронами. Глутаминовая кислота способна возбуждать большинство центральных нейронов в незначительных концентрациях (до 0,01 ммоль), причем возбуждение протекает быстро и обратимо. Возбуждение, вызываемое глутаминовой кислотой, связано с деполаризацией мембран и увеличением проводимости ионов  $\text{Na}^+$ . Возможно, что возбуждающий эффект глутаминовой кислоты связан с ионами  $\text{Ca}^{2+}$ , которые при действии глутамата выводятся из определенных участков мембраны, и таким образом повышается проницаемость последней для одновалентных ионов. Это предположение нашло экспериментальное подтверждение в опытах, где глутамат специфически удалял ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , связанные с синаптическими мембранами. Анализ субклеточных фракций показал, что глутаминовая кислота локализована в цитоплазме, а не в синаптических окончаниях. Однако в модельных опытах установлено, что синаптосомы могут поглощать глутамат из инкубационной среды и это поглощение зависит от концентрации одновалентных ионов.

Нейромедиаторное действие глутаминовой кислоты проявляется при взаимодействии ее со специфическим рецептором, который, по-видимому, имеет природу кислого гликопротеида.

В последнее время в литературе обсуждается вопрос относительно нейромедиаторной роли гистамина в ЦНС. Как известно, несмотря на то, что свободного гистамина в организме сравнительно немного, действие его охватывает различные стороны функциональной деятельности. Гистамин участвует в повышении проницаемости кровеносных сосудов и секреции желудочка, в снижении кровяного давления, в возникновении аллергических состояний и развитии болевых синдромов.



В головном мозгу гистамин обнаружен в гипоталамусе, зрительных нервах, коре больших полушарий и мозжечке; наибольшее содержание его найдено в гипоталамусе — до 16 мкг/г, наименьшее в мозжечке — 0,05 мкг/г ткани. Ферменты метаболизма гистамина, такие как гистидин-декарбоксилаза (КФ 4.1.1.22), диаминооксидаза (диаминоксидоксидаза, дезаминирующая; КФ 1.4.3.6) и имидазол-метилтрансфераза, локализованы также в этих отделах головного мозга и их активность соответствует региональному распределению гистамина.

Гистамин присутствует в трех формах: свободной, лабильносвязанной и прочносвязанной. Лабильносвязанная форма легко переходит в свободную, наиболее реактивную форму гистамина. Сложнее обстоит дело с прочносвязанным гистамином, так как не известна природа химического соединения, с которым он связан, и освобождение гистамина возможно только при сильном кислотном гидролизе.

Представление о нейромедиаторной роли гистамина в ЦНС было выдвинуто после того, как обнаружили факт выделения гистамина и изменения активности ферментов его метаболизма при возбуждении некоторых нервов, которые на основании гистохимического анализа получили название «гистаминэргических». При исследовании субклеточной локализации обнаружено, что гистамин содержится в синаптических везикулах, что, казалось бы, подтверждает его нейромедиаторную роль, но в то же время до сих пор не решен вопрос относительно локализации ферментов катаболизма гистамина.

Таким образом, вопрос относительно нейромедиаторной роли в ЦНС таких соединений, как глицин, глутаминовая кислота и гистамин, до настоящего времени остается открытым.



## Глава 9

### БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НЕЙРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ

В настоящее время под общим понятием «биологическая память» объединяются все виды памяти живых организмов, представляющие собой информационные системы. Живые организмы способны принимать (воспринимать) и передавать информацию, в этом в значительной степени проявляется их развитие, так как на каждом этапе эволюционного развития животных, растений и микроорганизмов происходит увеличение и изменение информации. Следовательно, эволюция живых организмов заключается в обогащении информацией, причем по мере развития организмов механизмы памяти становятся более сложными и совершенными.

Биологическая память включает в себя генетическую, эпигенетическую, иммунологическую и нейрологическую память. Все виды биологической памяти взаимосвязаны между собой. Возникали они в основном последовательно, хотя дальнейшее развитие их происходило параллельно.

Генетическая память присуща всем живым организмам независимо от степени их развития. Как известно, химическим кодом генетической памяти является ДНК, которая несет богатейшую информацию, приобретенную в процессе эволюционного развития живых организмов. По мере развития их генетическая память расширялась и усложнялась, особенно у высших животных и человека. При этом человек обладает не только присущими ему наследственными внутренними и внешними признаками, но и обширной генетической потенцией, приобретенной в процессе эволюции. В свою очередь влияние внешней и внутренней среды может стимулировать или тормозить реализацию генетического аппарата.

Эпигенетическая память возникла на основе генетической памяти. По мнению И. П. Ашмарина, ее можно рассматривать как особую форму наследования, характерную для



клеток дифференцированного многоклеточного организма. С помощью эпигенетической памяти поколениям данной клетки передается весь набор генов, но часть из них находится в блокированном состоянии. Зачаточные формы эпигенетической памяти возникли и имеются, вероятно, у одноклеточных эукариотов, обладающих сложным циклом развития. Таким образом, эпигенетическая память представляет собой надстройку над генетической памятью.

Иммунологической памятью не обладают одноклеточные организмы, в примитивном состоянии она обнаружена у кольчатых червей и оболочников. Все позвоночные животные обладают иммунологической памятью, однако отчетливо она проявляется только у птиц и млекопитающих. Иммунологическая память у высших животных и человека способна различать белки, которые отличаются друг от друга отдельными фрагментами, состоящими из 5—6 аминокислотных остатков, при наличии сотен и тысяч аминокислотных остатков, входящих в состав тех или иных белков. Следует отметить, что важнейшим элементом иммунологической памяти является использование механизмов генетической памяти.

Однако, несмотря на сходство механизмов биологической памяти, нельзя свести более сложные формы памяти к более простым древним формам (Ашмарин). Особенно наглядно это проявляется при рассмотрении нейрологической памяти, которая за последнее время начинает привлекать исключительное внимание нейрехимиков.

### 9.1. НЕЙРОЛОГИЧЕСКАЯ ПАМЯТЬ

Нейрологическую память иногда называют психической или индивидуальной. Впервые в 1940 г. Лешли высказал предположение о том, что в основе памяти лежат химические изменения, происходящие в нервной ткани. В конце 40-х годов было высказано предположение о том, что в основе памяти лежат процессы, связанные с изменением метаболизма белковых комплексов (макромолекул). В 1949 г. на конференции в США, посвященной кибернетике, были высказаны пожелания о необходимости проведения систематических исследований, посвященных биохимическим основам памяти.

За последние 20 лет нейрологическая память стала предметом интенсивных биохимических исследований. Этому способствовало расширение и усовершенствование методических возможностей, а также успехи молекулярной биологии, биохимической генетики и кибернетики. Было доказано наличие в живых организмах химического кодирования наследственных признаков в молекуле ДНК, введено понятие «бит», соответствующее единице информации и т. д. Несомненно, на интенсивное изучение нейрологической памяти оказал влияние ряд факторов совре-



менной жизни, и прежде всего небывалый темп развития науки и техники, огромный поток информации и т. д. При этом независимо от профессии умственный труд стал играть все большую и большую роль в жизни человека.

На изучение биохимических основ нейробиологической памяти огромное влияние оказали работы Крика и Уотсона (1952). Эти ученые доказали наличие химического кодирования в живых организмах.

Нейробиологическая память людей длительное время привлекала внимание преимущественно физиологов, психиатров, психологов и невропатологов. Исследовались особенности нейробиологической памяти у различных возрастных групп, разного пола и профессий, а также нарушения нейробиологической памяти при различных заболеваниях людей, локализация ее в отделах головного мозга и т. д. Только в последние 20 лет биохимические исследования стали проводиться на животных, причем сначала на плоских червях (планариях) (Мак-Коннелл, Джекобсон и Кимбле), а позднее на различных представителях животного мира: рыбах, птицах и, наконец, на высших животных — крысах, мышах, собаках, рогатом скоте, обезьянах и т. д.

Катц и Хальстед высказали мнение о том, что в процессе кодирования долговременной памяти должны играть важную роль те молекулы, которые способны хранить исключительно большую информацию. К таким макромолекулам прежде всего относятся белки и нуклеиновые кислоты. Все это дало основание предполагать, что при различных формах тренировок и обучения у животных и человека происходит изменение метаболической активности энергетических и пластических веществ и соответствующих ферментов, участвующих в формировании нейробиологической памяти.

Многочисленные исследования последних лет посвящены образованию (биосинтезу) белков в процессе обучения (Богоч, Агранофф и другие). В этом отношении особый интерес представляют данные, полученные Хиденом и Муром, в которых показано, что процесс обучения связан с биосинтезом белка S-100. Эти исследования, особенно работы Хидена, позволили подойти к углубленному изучению и пониманию биохимических основ нейробиологической памяти. Автор показал, что в период тренировки в нейронах и нейроглии происходят противоположные биохимические процессы: в нейронах содержание РНК возрастает, а в нейроглии, наоборот, снижается.

## 9.2. ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ

Основной функцией нервной системы, и в особенности головного мозга, является его регулирующая и интегрирующая деятельность. Это проявляется прежде всего в обеспечении оптимальной деятельности отдельных органов и тканей целост-



ного организма. Одна из важнейших функций нервной системы человека и высших животных — психическая деятельность головного мозга. Нейрологическая память есть одно из проявлений этой деятельности. Следовательно, нейрологическая память представляет собой специфическую интегративную функцию нервной системы, в основе которой лежат присущие живым системам биохимические процессы: саморегуляции, самоорганизации и самосборки, причем в нервной системе они проявляются наиболее сложно и совершенно.

При изучении нейрологической памяти, как особого вида биологической памяти, следует учитывать то обстоятельство, что нервная система представляет собой уникальную организацию. Нейрологическая память формируется, кодируется, хранится, а также и воспроизводится, по-видимому, на различных уровнях, начиная с молекулярного, надмолекулярного, субклеточного и кончая межклеточным уровнем; последний возникает в виде ассоциаций (ансамблей) нейронов. Взаимосвязь между нейронами происходит с участием синапсов, нейромедиаторов, гормонов и ряда специфических нейропептидов, белков и липидов. Информация, поступающая из внешней и внутренней среды в виде сенсорных раздражений, воспринимается рецепторными белками нейронов.

При восприятии сенсорных раздражений обнаруживаются две характерные особенности. Первая заключается в том, что все сенсорные раздражения передаются в виде нервных импульсов. При этом афферентные волокна инициируют изменение мембранных потенциалов, вызывая возбуждение или торможение. Вторая особенность состоит в том, что воспринимаемая информация кодируется в виде нервных импульсов и передается в ЦНС. Благодаря наличию синаптических образований внутри отдельных нейронов и между разными нейронами образуются многочисленные синаптические связи, которые возникают как по локальному, так и функциональному признаку. По мнению ряда авторов, кодирование может происходить в определенных зонах поверхности мембран с участием цитоструктур — микротрубочек и нейрофиламентов. В настоящее время выдвинута гипотеза «мозаичности» мембран синаптических образований. Кодирование информации на поверхности определенных участков мембран возможно только при определенных условиях, а именно — при наличии развитой системы эндоплазматического ретикулума мембран, что ограничивает диффузию и тем самым способствует в этих зонах сохранению определенного функционального состояния синаптических образований, в результате чего возникают и закрепляются определенные межнейронные функциональные связи. Без таких ограничений синаптические мембранные потенциалы были бы недостаточны для поддержания продолжительных локальных изменений в функционирующих синапсах.



В настоящее время нейробиологическую память делят, как правило, на два этапа: кратковременную и долговременную память. Кроме того, весь процесс нейробиологической памяти можно разделить на три этапа или на четыре стадии. Краткая характеристика этапов и стадий приводится в табл. 38, в основу которой взята таблица И. П. Ашмарина (1975).

Как видно из табл. 38, в первой стадии происходит восприятие (прием) информации, поступающей извне и изнутри организма в виде сенсорных раздражений, которые кодируются в виде электрической стадии, она интенсивно разрабатывается физиологами, изучающими физиологические основы памяти. Первая стадия относится к кратковременной памяти, а вторая стадии — к промежуточной, или стадии консолидации. В этой стадии часть нервных импульсов при определенных условиях с участием биохимических процессов, которые будут рассмотрены ниже, перекодируется в виде «следов» памяти, так называемых энграмм памяти. Эта стадия теснейшим образом связана с кратковременной памятью. В то же время она является началом долговременной памяти. В формировании долговременной памяти участвуют сложные комплексы, в состав которых, вероятно, входят специфические белки, РНК, нейропептиды и другие метаболиты. При этом нейроны, хранящие долговременную память, по-видимому, объединяются в ансамбли нейронов. В третьей стадии происходит хранение долговременной памяти, ее продолжительность может длиться несколько дней, лет и даже в течение всей жизни человека, что зависит от многих факторов. К четвертой стадии нейробиологической памяти относится акт воспроизведения (воспоминания) хранящейся информации, причем воспоминания могут происходить многократно, что закрепляет (сохраняет) память на более длительное время. Эта стадия биохимически не изучена. Имеется ряд косвенных физиологических данных, но они будут рассмотрены ниже.

Как уже отмечалось, нервная ткань характеризуется уникальной организацией на межклеточном уровне в виде пространственно-функциональных образований — ансамблей нейронов. Важнейшие исследования, посвященные взаимодействию нейронов в виде синаптических связей и роли нервной импульсации, проведены Экклсом, Катцем и другими авторами. Они показали, что нейроны взаимодействуют путем синаптических образований контактов друг с другом при участии специфических белков, липидов, РНК, нейропептидов, медиаторов и других метаболитов, входящих в состав нейронов и нейроглии. Кроме того, нейробиологическую память нельзя свести даже на клеточный уровень, поскольку в формировании ее важную роль играют межклеточный уровень, ансамбли нейронов и различные отделы ЦНС. Уровень аппарата нейробиологической памяти более высокий, чем генетической памяти, так как в процессе



эволюции животного мира роль нейрологической памяти резко возрастает, она делается более разнообразной и совершенной. Для создания рациональной теории молекулярных основ нейрологической памяти следует исходить из уникальных свойств нервной системы, и особенно из строения мембран и синаптических образований. Вопрос о том, что представляет собой нейрологическая память в биохимическом отношении, пока изучен недостаточно, хотя этот раздел нейрохимии исследуется интенсивно.

Ниже будут рассмотрены биохимические основы кратковременной и долговременной памяти.

### 9.3. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Кратковременная память является начальным этапом нейрологической памяти. Физиологи иногда называют ее оперативной памятью. Начальным звеном этой стадии является прием (восприятие) поступающей информации. При этом непрерывный поток информации внешней и внутренней среды в виде сенсорных раздражений воспринимается рецепторными белками органов чувств, кодируясь в виде афферентных нервных импульсов. Эту стадию кратковременной памяти часто называют электрической.

В настоящее время большинство исследователей считает, что при интенсивном и продолжительном функционировании кратковременной памяти происходит образование синаптических связей благодаря взаимодействию макромолекул (белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов и др.). При этом возникают водородные связи, ван-дер-ваальсовы силы, гидрофобные связи, способствующие взаимодействию синапсов друг с другом, в результате чего образуются разнообразные по сложности ансамбли нейронов, участвующие в кодировании поступающей информации. В замкнутой нервной цепи возникает реверберация нервных импульсов, которая может продолжаться от нескольких секунд до нескольких минут и даже часов, что способствует сохранению замкнутой цепи, продолжительностью которой, в свою очередь, зависит от функционального состояния организма, от силы и продолжительности потока информации. По-видимому, одновременно происходит непрерывное образование своеобразной пространственно-функциональной архитектоники нейронов, существенным моментом которой является возникновение межнейронных синаптических контактов.

По мнению большинства исследователей, возникновение кратковременной памяти происходит наиболее интенсивно в гиппокампе, поэтому в период реверберации нервных импульсов гиппокамп рассматривается как интегратор кратковремен-



ной памяти. Данное предположение авторы обосновывают, исходя из следующих фактов: при сильном раздражении электрическим током отдельных долей гиппокампа наблюдается ухудшение кратковременной памяти; при двустороннем разрушении гиппокампа кратковременная память часто полностью нарушается. Однако вопрос о локализации кратковременной памяти нельзя считать окончательно решенным. Тем не менее экспериментально убедительно показано, что при изменении функционального состояния, которое сопровождается снижением энергетического обмена, а также при использовании различных веществ, вызывающих гипоксию, наркоз или ухудшающих общее состояние организма, как правило, кратковременная память отчетливо нарушается. На основании многочисленных исследований можно считать установленным, что во всех случаях, когда при различных воздействиях снижается или нарушается энергетический обмен, одновременно ухудшается или полностью исчезает кратковременная память. Процесс нарушения памяти сопровождается разрывом водородных и других связей между макромолекулами, соединяющих синапсы друг с другом, в результате чего нарушаются замкнутые нервные цепи ансамблей. Прием информации происходит не только при асимметрическом (неравномерном) распределении ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , но и при соблюдении условий для активного транспорта  $\text{Na}^+$ , при котором ионы  $\text{K}^+$  направляются извне внутрь, а  $\text{Na}^+$  — в обратном направлении. Этот сложный биофизический процесс для краткости называют «натриевым насосом», так как в этот период происходит активный транспорт ионов  $\text{Na}^+$  и тем самым снова восстанавливается неравномерное распределение ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в нейронах, необходимое для нормального их функционирования.

Известно, что активный транспорт  $\text{Na}^+$  происходит в период восстановительной фазы нервного импульса и связан с затратой энергии. В этом процессе важную роль играют ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , которые в основном находятся в связанном состоянии с белками эндоплазматического ретикулума. Как только завершается процесс деполяризации, начинается пассивный транспорт ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ , характерный для потенциала действия.

Таким образом, при восприятии информации, т. е. в период начальной стадии кратковременной памяти, существует прямая связь между интенсивностью физиологических (электрических) и биохимических процессов, лежащих в основе возникновения и проведения нервных импульсов (прежде всего это относится к энергетическому обмену). Оуабаин, как известно, является специфическим ингибитором  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -зависимой АТФазы. При введении его тормозится активность АТФазы, замедляется выделение энергии и тем самым блокируется «натриевый насос» и проведение нервного импульса. Следовательно, электрическая стадия кратковременной памяти теснейшим образом связана с



энергетическим обменом и теми метаболическими процессами, которые обеспечивают относительно постоянный и высокий энергетический уровень.

В возникновении и функционировании кратковременной памяти, по-видимому, большую роль играют нейромедиаторы. Так, в период нервной импульсации через синаптические мембраны резко усиливается выделение нейромедиаторов (АХ, норадреналина, адреналина, серотонина и др.) в синаптические щели. Как оказалось, нейромедиаторы преимущественно локализованы в везикулах, которые расположены около пресинаптических мембран. Предполагается, что в стенках везикул синаптических мембран имеются белки, богатые SH-группами, которые легко образуют соединения белок—S—S—белок. Под влиянием нервного импульса происходит освобождение иона  $\text{Ca}^{2+}$ . Таким образом, выходу нейромедиаторов предшествует изменение конфигурации белков, входящих в состав пресинаптических мембран. В свою очередь, нейромедиаторы, поступившие в щели пресинаптических мембран, достигают постсинаптических мембран и взаимодействуют с фосфолипидами, входящими в состав белков-рецепторов. В возникновении нервной импульсации, вероятно, существенную роль играет АХ, который участвует в процессе перераспределения ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  и тем самым влияет на интенсивность «натриевого насоса». Установлено, что АХ в нервной ткани преимущественно находится в связанном состоянии, т. е. в виде системы ацетилхолин-белок. В состоянии покоя (АХ в основном находится в связанном состоянии) активность ацетилхолинэстеразы (АХЭ) резко замедлена, одновременно снижена интенсивность «натриевого насоса».

Под влиянием афферентной импульсации ацетилхолин — белок распадается на белок и ацетилхолин, последний через пресинаптические мембраны поступает в постсинаптические щели (везикулы). Далее при участии АХЭ происходит расщепление свободного АХ на уксусную кислоту и холин, который взаимодействует с холинорецепторными белками постсинаптических мембран. Доказательством участия АХ в процессе возникновения и проведения нервного импульса служит также тот факт, что в это же время наблюдается резкое повышение активности АХ-эстеразы, она расщепляет молекулу АХ на уксусную кислоту и холин со скоростью  $\sim 10^{-3}$  с. Таким образом, имеет место синхронность биохимических и биофизических процессов, которую можно объяснить тем, что молекула АХ-эстеразы имеет сотни активных центров с высоким сродством к АХ. Следовательно, в период изменения мембранного потенциала действия образуется достаточное количество АХ, что способствует возникновению и проведению нервного импульса в период электрической стадии кратковременной памяти. Таким образом, электрическая стадия кратковременной нейробиологической памяти принципиально отличается по механизмам от других видов биологической памяти,



так как ее непосредственной основой является замыкание ла-  
бильных межнейронных связей, т. е. образование ансамблей пей-  
ронов по функциональному признаку.

#### 9.4. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОМЕЖУТОЧНОГО ЭТАПА НЕЙРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ (СТАДИИ КОНСОЛИДАЦИИ)

Особенностью данного этапа является то, что он не имеет четких границ как в момент его возникновения, так и в момент перехода в стадию хранения долговременной памяти.

Современный человек из окружающей среды воспринимает огромный поток разнообразной информации. Вследствие этого особую актуальность в настоящее время приобретает избирательное и эффективное запоминание поступающей информации, что в первую очередь определяется функциональным состоянием организма, т. е. готовностью организма запоминать ту или иную информацию. В понятие «готовность» входит ряд физиологических и психологических параметров, а именно: физиологическое состояние организма, возраст, профессиональная подготовленность и заинтересованность в закреплении данной информации. Высшей формой избирательного запоминания, по-видимому, является доминантное состояние организма. У человека это прежде всего проявляется в виде особой увлеченности, одержимости, причем такое состояние может иметь место в любой сфере человеческой деятельности.

До последнего времени стадия консолидации в основном привлекала внимание психологов, физиологов, педагогов, так как обучение, тренировки теснейшим образом связаны с психофизиологическими процессами. В этой связи возникает ряд вопросов: каковы потенциальные возможности человеческого мозга, а также необходимые психофизиологические условия, которые способствуют повышению процесса закрепления поступающей информации или, напротив, ухудшают процесс запоминания, т. е. превращение кратковременной памяти в долговременную.

Стадия консолидации, как правило, длится не более 30 мин, в отдельных случаях она может продолжаться до нескольких часов. Запоминание может происходить на основании одностороннего воздействия (раздражения), но при этом оно должно сопровождаться сильным положительным или отрицательным эмоциональным подкреплением. Однако процесс запоминания более эффективно происходит при повторных сенсорных раздражениях, которые оказывают длительное и притом достаточно сильное воздействие, поскольку образование энграмм («следов») памяти представляет собой сложный динамический процесс. Нормальное психофизиологическое состояние организма стимулирует запоминание поступающей информации, отрицательные факторы, ухудшающие функциональное состояние



организма и его метаболизм (особенно энергетический обмен), как правило, отчетливо снижают интенсивность стадии консолидации.

Установлено, что при возникновении стадии консолидации, т. е. при переходе кратковременной памяти в долговременную, расширяется участие биохимических процессов. Так, на повышение работоспособности мозга влияют метаболизм свободных аминокислот, активность соответствующих моноаминоксидаз, а также кофакторы и другие необходимые метаболиты, обеспечивающие обмен в мозгу. Кроме того, показано, что ряд соединений — кофеин, в небольших дозах пикротоксин, стрихнин, тетразол и другие — облегчают консолидацию «следов» памяти. Однако перечисленные вещества могут стимулировать стадию консолидации только временно, а затем наступает переутомление головного мозга, и переход кратковременной памяти в долговременную резко ухудшается. Стадия консолидации возникает, по-видимому, с участием всех уровней (молекулярного, надмолекулярного, субклеточного, клеточного, включая и межклеточный), причем специфическая особенность функциональной деятельности головного мозга наиболее отчетливо проявляется на межклеточном уровне, где возникают своеобразные пространственно-функциональные системы — ансамбли нейронов и функциональные центры, которые могут быть доминантными очагами возбуждения.

Вопрос о локализации стадии консолидации нельзя считать окончательно решенным. Ряд авторов считают, что эта стадия как и электрическая, преимущественно локализована в гиппокампе, но, возможно, и в височных долях. Данное предположение основано на опытах с двусторонней экстирпацией гиппокампа. Однако в дальнейшем было показано, что даже при двустороннем удалении гиппокампа не полностью утрачивается способность к обучению, хотя оно значительно затрудняется. Если пуромидин вводить не только в гиппокамп, а и в другие области, например в височную и каудальную области головного мозга, то у животных будет полностью тормозиться стадия консолидации. По-видимому, в формировании промежуточного этапа участвует не только гиппокамп, но и другие области мозга: височная и каудальная, а может быть и другие. Следует также отметить, что площадь, толщина и плотность пресинаптических и постсинаптических мембран являются показателем активно функционирующих синапсов. Изменение или нарушение пресинаптических и постсинаптических структур приводит к снижению или утрате не только передачи афферентными волокнами нервных импульсов, но и закрепления поступившей информации. Все это свидетельствует о важнейшей роли синаптических образований в формировании памяти. Нейрофизиологи и нейроморфологи, используя метод микроэлектродной регистрации, а также электронной микроскопии



синаптических терминалей, и сопоставляя полученные этими методами данные, приходят к выводу о том, что существует непрерывная взаимозависимость между нейронами и возникшими ансамблями нейронов по функциональному признаку. По мнению физиологов, ансамбли нейронов можно рассматривать как основные элементы функциональных центров.

В настоящее время считается доказанным, что стадия запоминания (консолидации) очень чувствительна, «ранима» к различным воздействиям, особенно к тем, которые снижают или нарушают энергетический обмен: это, например, сильное электрическое раздражение, гипоксия, наркоз, травмы, разнообразие химических вещества, являющиеся ингибиторами  $K^+$ ,  $Na^+$ -зависимой АТФазы и др. Хотя процесс запоминания биохимически изучен недостаточно, тем не менее имеются достаточно убедительные основания предполагать, что на стадии консолидации, т. е. в закреплении информации, участие биохимических процессов более разнообразно, чем в электрической стадии. Так, на стадии консолидации имеет большое значение не только энергетический обмен, но и метаболизм пластических веществ, входящих в состав возбужденных синаптических образований, так как в процессах запоминания и образования «следов» памяти (энграмм) участвуют более разнообразные биохимические процессы, связанные с метаболизмом пластических веществ. Например, процесс узнавания и присоединения нейронов по функциональному состоянию может происходить с участием ганглиозидов (см. гл. 4). Однако этот вопрос требует детального исследования.

Исследования биохимических процессов в период консолидации стали возможны благодаря углубленному изучению метаболизма нуклеиновых кислот при тренировках и обучении животных. Эти макромолекулы характеризуются широким диапазоном конформационных изменений структуры, в результате чего они обладают большой емкостью и способностью сохранять огромную информацию, поступающую из внутренней и внешней среды организма.

В процессе обучения и тренировок у различных животных наиболее систематически были изучены биохимические изменения прежде всего РНК и белков в различных отделах ЦНС, при этом использовались разнообразные пути и методы исследования. В этом отношении одним из перспективных путей исследования кратковременной и долговременной памяти является метод ингибиторного анализа, который может быть широко применен при обучении и тренировках животных на стадии консолидации с целью изучения роли РНК и специфических белков, а также других макромолекул, принимающих участие в формировании долговременной памяти. Однако полученные результаты на целостном организме следует использовать с максимальной осторожностью, так как эффективность



действия ряда ингибиторов (актиномицина D, пуромицина и других) различна в разных органах одного и того же организма, и кроме того в отношении действия отдельных ингибиторов имеет место видовая специфичность.

## 9.5. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

### Роль РНК в формировании долговременной памяти

Хиден был одним из первых исследователей, который в начале 60-х годов приступил к систематическому изучению биохимических процессов, происходящих при тренировках и обучении животных. Он разработал метод разделения нейронов и нейроглии, и на основании этого получил обогащенные фракции как нейронов, так и нейроглии; он же усовершенствовал цитохимический метод определения РНК. Все вместе взятое позволило автору определить содержание РНК отдельно в нейронах и нейроглии. Хиден установил, что содержание РНК значительно выше в нейронах, чем в нейроглии и в клетках других органов и тканей. Наиболее высокий уровень РНК приходится на долю больших полушарий и мозжечка, причем в нейронах содержится примерно в 10 раз больше РНК, чем в нейроглии. На основании полученных экспериментальных данных автор сделал вывод о том, что РНК играет важную роль в деятельности нервной системы. Исследования, проведенные Хиденом, также убедительно показали необходимость изолированного изучения биохимических процессов в нейронах и нейроглии, поскольку уровень РНК в этих клетках различен. В то же время нейроглия в головном мозгу составляет не менее 15% от массы всего мозга, т. е. в несколько раз превышает массу тела нейронов.

Кроме того, было установлено, что биохимические процессы в нейронах и нейроглии протекают с различной интенсивностью и разнонаправленно, поэтому суммарное изучение нейронов и нейроглии часто не выявляет изменений биохимических процессов, происходящих в них. Так, данные, полученные на гомогенатах мозга, не дают четкого и ясного представления о биохимических процессах, происходящих в головном мозгу при обучении и тренировках. Напротив, при изучении отдельно нейронов и нейроглии Хидену удалось выявить различие в количестве отдельных оснований РНК, и особенно в соотношении между аденином и урацилом, у обученных крыс по сравнению с контрольными.

Как видно из табл. 39, нуклеотидный состав РНК в процессе обучения изменяется. Если у нормальных животных в нуклеотидном составе РНК соотношение аденина к урацилу (А/У) равно 1,06, то у тренированных животных состав нуклеотидов РНК изменился, соотношение  $A/U = 1,32$ . При обучении



наблюдается увеличение содержания аденина и одновременно уменьшение урацила в ядерной РНК нейронов и цитозина в РНК нейроглии, в результате чего изменилось соотношение оснований, входящих в состав РНК. По мнению Хидена, это связано со структурными изменениями в молекуле РНК. Кроме того, в опытах с меченым  $^{14}\text{C}$ -уридином было показано, что более интенсивно меченый урацил включается в рибосомальные гранулы мозговой ткани у тренированных животных по

Таблица 39  
Нуклеотидный состав ядерной РНК в нейронах и глии в норме и в процессе обучения крыс, % (Хиден, Ланге, 1965)

Основания и их соотношения	Ядро		Глия	
	Норма	Обучение	Норма	Обучение
Аденин	21,4	24,1	25,3	28,3
Гуанин	26,2	26,7	29,0	28,8
Цитозин	31,9	31,0	26,5	24,3
Урацил	20,5	18,2	19,2	18,6
G+C/A+U	1,38	1,37	1,25	1,13
A/U	1,06	1,32	1,32	1,52

сравнению с контрольными, в то время как интенсивность включения меченого урацила в рибосомальных гранулах печени и почках у тех же животных не изменялась.

Аналогичные результаты были получены при использовании  $^{32}\text{P}$ , а именно в период тренировок у животных наблюдалось более интенсивное включение меченого фосфора в молекулу РНК по сравнению с контрольными животными. Хиденом также установлено, что в некоторых отделах центральной нервной системы обученных животных РНК отличалась нуклеотидным составом от РНК контрольных животных. Он пришел к выводу, что в процессе обучения и тренировок происходят изменения нуклеотидного состава РНК, т. е. образуется специфическая РНК. Увеличение количеств РНК и изменение ее нуклеотидного состава в период обучения, тренировок более отчетливо проявляется в гиппокампе, чем в других отделах головного мозга. Особенно четкие данные были получены на крысах, которых тренировали добывать пищу левой лапой при раздражении вестибулярного аппарата животного. При введении в вестибулярный аппарат рибонуклеазы до тренировок или в период их наблюдалось резкое ухудшение обучения этих животных. Если рибонуклеазу вводили сразу же после тренировок, то крысы утрачивали приобретенные навыки.

Проводились также опыты на животных с ингибиторами синтеза РНК. Если ввести актиномицин D перед обучением



или в процессе обучения, то животных, как правило, не удавалось обучить, даже если тренировка проводилась многократно. Однако в этом случае не всегда имели место четкие и убедительные результаты. Как оказалось, актиномицин D неодинаково действует на различных животных и на разные органы; кроме того, влияние данного ингибитора на отдельные фракции РНК, содержащиеся в головном мозгу, также было различным. В дальнейшем в опытах на крысах было показано, что летальные дозы для этих животных подавляют биосинтез суммарной фракции РНК в мозгу в среднем не более чем на 70%. Особенно слабое действие актиномицин D оказывает на фракцию мРНК мозга, хотя именно мРНК непосредственно участвует в формировании памяти.

При обучении золотых рыбок получены более четкие результаты, так как для них актиномицин D более специфичен и менее токсичен (Агранофф). В то же время у этих животных метаболизм мРНК головного мозга резко подавляется данным ингибитором. По последним данным Хидена, при обучении отчетливо повышается включение меченых предшественников в общую фракцию РНК гиппокампа. Эти данные свидетельствуют о необходимости более углубленного изучения отдельных фракций РНК, их локализации в нейронах, нейроглии и в различных отделах головного мозга и у разных животных.

Одновременно проводятся биохимические исследования по изучению интенсивности включения меченых аминокислот в белки и выяснению роли белков в долговременной памяти.

### Роль белков в формировании долговременной памяти

Как уже отмечалось, с начала 50-х годов интерес к биохимическим основам памяти особенно возрос в связи с выяснением роли белков в нейрологической памяти. В многочисленных опытах на крысах и других животных при выработке поведенческих реакций у обученных животных были обнаружены кислые белки, которые характеризовались более интенсивным обновлением, чем те же белки у контрольных животных. Эти белки были выделены из пирамидальных нервных клеток. В отличие от контрольных, у животных в период тренировки повышалось включение меченых  $^3\text{H}$ -лейцина и  $^{14}\text{C}$ -лизина в белки рибосом, митохондрий и синапсом, выделенных из коры больших полушарий, мозжечка, зрительного бугра и других отделов ЦНС. Аналогичная картина наблюдалась в белках гиппокампа тренированных животных: обнаруживалось повышенное включение  $^{32}\text{P}$  по сравнению с контрольными животными. В этой связи высказывалось предположение о том, что формирование промежуточной стадии долговременной памяти происходит



преимущественно в гиппокампе. Это предположение основывалось на опытах с двусторонней экстирпацией гиппокампа. В дальнейшем было показано, что даже при двустороннем удалении гиппокампа животные не полностью утрачивают способность к обучению, хотя оно крайне затруднено. При введении в гиппокамп ингибитора биосинтеза белка, например пурамицина, животные сохраняют способность к обучению, хотя этот процесс резко замедлен. Если же ингибитор одновременно вводить не только в гиппокамп, но и в другие области, например в височную и каудальную области мозга, животные полностью утрачивают способность к обучению. Вероятно, не только гиппокамп, но и другие отделы головного мозга играют существенную роль в формировании и хранении долговременной памяти.

В настоящее время при изучении роли белков в формировании долговременной памяти особое внимание уделяется специфическим белкам (см. гл. 6). С помощью микроэлектрофореза повышается биосинтез белка S-100.

В последние годы Хиденом были проведены исследования, посвященные выяснению роли белка S-100 гиппокампа в процессе обучения и тренировок животных. Исследования проводились на очень небольших участках гиппокампа. При обучении животных в некоторых участках гиппокампа содержание белка S-100 увеличивается на 50%, а включение меченых предшественников в белок S-100 увеличивается в 2—3 раза. Одновременно наблюдается повышение внеклеточного  $\text{Ca}^{2+}$ , т. е. возрастает количество ионов  $\text{Ca}^{2+}$ , что способствует повышению электрофоретической подвижности белка S-100 и благоприятствует его конформационным изменениям. Исследования проводились в гиппокампе и коре головного мозга, причем более отчетливые изменения наблюдались в гиппокампе. При введении в гиппокамп специфической антисыворотки белка S-100 резко замедлялось или полностью нарушалось обучение животных.

По мнению Хидена, быстрые и отчетливые количественные и метаболические изменения белка S-100 в гиппокампе при обучении следует рассматривать как начальный этап последующих изменений, происходящих в мембранных структурах синаптических образований, которые кодируются в виде энграмм («следов») долговременной памяти.

В связи с изучением роли белка S-100 при обучении представляет интерес гипотеза Хидена о том, что во время обучения происходит функциональная дифференцировка нейронов или небольших участков гиппокампа благодаря обогащению их белком S-100 и увеличению количества внеклеточных ионов  $\text{Ca}^{2+}$ . Это не только вызывает конформационные изменения белка S-100, но и влияет на актиноподобные белки (нейро-



фибриллы), входящие в состав мембранных структур синаптических образований, а также на транспорт медиаторов (ГАМК и др.). Кроме того, происходящая при обучении дифференцировка нейронов облегчает узнавание аналогичных нейронов и тем самым способствует образованию ансамблей нейронов в виде пространственно-функциональных структур, имеющих специфическую архитектуру.

В головном мозгу были обнаружены также и другие специфические белки, относящиеся к гликопротеидам. Богоч изолировал из мозга гликопротеид, названный им «гликопротеид 10В». Затем автор вместе с сотрудниками выделил из мозга гетерогенный гликопротеид, который электрофоретически разделялся на отдельные фракции (10А, 10В, 11А, 11В и др.), причем все они оказались гликопротеидами. При обучении голубей Богоч установил, что отдельные гликопротеиды в мозгу изменяются неоднозначно; например, содержание белка 10В уменьшается, а количество 11А, напротив, возрастает. Так, у контрольных птиц содержание фракции 11А гликопротеида равно 0,56 мкг/г, после обучения количество этой фракции в мозгу обученных голубей достигает 2,63 мкг/г. Далее автор обнаружил что гликопротеиды в основном локализованы в синаптических мембранных структурах. Это дало основание предположить участие гликопротеидов в биохимических процессах, происходящих при тренировках и обучении, и сделать вывод, что специфические гликопротеиды являются необходимыми компонентами при формировании и хранении долговременной памяти.

С целью выяснения роли белка в образовании долговременной памяти были проведены также опыты с применением ингибиторов, нарушающих нормальный биосинтез белка. При введении пурамицина, циклогексимида и ацетоксициклогексимида тренированные животные утрачивают приобретенные ими навыки, что свидетельствует о нарушении долговременной памяти. Если пурамицин или циклогексимид вводить животным перед тренировкой, то они делают много ошибок по сравнению с контрольными животными. Агранофф приучал золотых рыбок к световому раздражению, но, если автор вводил этим рыбкам пурамицин или циклогексимид до или после сеанса обучения, то рыбки утрачивали резистентность к свету. Эти опыты также свидетельствуют о связи долговременной памяти с белками. Следует, однако, отметить, что пурамицин в качестве ингибитора в опытах с обучением и тренировкой не всегда давал четкие и однозначные результаты. Это можно объяснить тем, что пурамицин подавляет начальный этап трансляции, вследствие чего образуется комплекс пептидилпурамицин. Данный комплекс отщепляется от рибосом и может длительное время сохраняться, нарушая нормальное взаимодействие синаптических



образований, участвующих в формировании долговременной памяти. Наоборот, более четкие результаты были получены с использованием в качестве ингибиторов циклогексимида и ацетоксициклогексимида, тормозящих биосинтез белка у крыс в среднем на 90% и у золотых рыбок на 80%. В последние годы показано, что циклогексимид и его производное ацетоксициклогексимид подавляют не только биосинтез белка, но и активность тирозин-3-гидроксилазы, которая участвует в образовании норадреналина из тирозина.

Кроме того, в ряде опытов с тренировкой животных был использован не ингибитор биосинтеза РНК, а предшественник — вместо гуанина, вводился 8-азогуанин. В этих опытах животные при обучении делали много ошибок; если 8-азогуанин вводился тренированным животным, то они утрачивали приобретенные ранее навыки; подобное поведение животных можно объяснить тем, что при введении 8-азогуанина хотя и происходит биосинтез РНК, однако при этом образуются аномальные молекулы РНК. В этих случаях образуется чужеродный белок, который нарушает нормальный ход биохимических процессов, участвующих в формировании и хранении долговременной памяти. Таким образом, проведенные опыты свидетельствуют о теснейшей связи биосинтеза РНК и белка с долговременной памятью. Как видно, в настоящее время наиболее изученным звеном в долговременной памяти являются процессы запоминания и хранения ее, поскольку эти процессы экспериментально можно изучать с помощью тренировок и обучения животных. Кроме того, экспериментально можно определить, с какой скоростью и как приобретаются животными те или иные навыки и длительность их сохранения.

Однако, несмотря на перспективность использования ингибиторов для установления участия белков в формировании долговременной памяти, следует отметить, что выявление роли индивидуальных белков в долговременной памяти этим путем не удастся установить, так как большинство ингибиторов подавляет метаболизм всех белков.

Таким образом, в настоящее время химическое представление о молекулярных механизмах долговременной памяти в основном базируется на следующих факторах: 1) на изменении интенсивности метаболизма и биосинтеза белка и РНК; 2) на нарушении долговременной памяти путем ингибирования биосинтеза белка и РНК.

Что же касается ДНК, то, как известно, в ней закодирована «генетическая память», обеспечивающая нормальные процессы онто- и филогенеза, включая специфические способности процессов, характерных для того или иного животного. Однако участие ДНК в формировании нейрологической (индивидуальной) памяти, по-видимому, заключается только в увеличении содержания ДНК.



## Биохимические процессы, происходящие в период хранения долговременной памяти

Стадия хранения долговременной памяти биохимически изучена недостаточно, что в значительной степени обусловлено рядом трудностей, которые возникают при изучении биохимических процессов, происходящих в этот период нейрологической памяти. Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что стадия хранения долговременной памяти не чувствительна к ингибиторам синтеза РНК и белка (актиномицину D, циклогексимиду и др.). Следовательно, в этой стадии не происходит интенсивного биосинтеза РНК и белка. Однако при введении синаптических ядов или оуабаина (ингибитора АТФазы) приобретенные животным навыки временно подавляются. Это нарушение долговременной памяти длится от нескольких часов до суток и более, после чего ранее приобретенные навыки у животных, как правило, вновь восстанавливаются. Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что для хранения памяти необходима повышенная проводимость синапсов, входящих в состав тех нейронов, в которых кодируется долговременная память. По-видимому, образовавшиеся в период формирования долговременной памяти пространственно-функциональные структуры не являются стабильными, неподвижными, а изменяются и перестраиваются.

### 9.6. ХИМИЧЕСКИЙ ПЕРЕНОС НЕЙРОЛОГИЧЕСКОЙ ПАМЯТИ С УЧАСТИЕМ НЕЙРОПЕПТИДОВ

В настоящее время одним из аспектов исследования биохимических основ нейрологической памяти является изучение химической передачи (переноса) с помощью специфических нейропептидов. Эти исследования, по мнению П. А. Кометиани, помогут выяснить ряд важных вопросов, связанных с биохимическими основами долговременной памяти. Впервые в 1959 г. появилась работа Мак-Коннела и других авторов, в которой описывались опыты, проведенные на плоских червях (планариях). Однако только после обширных исследований, проведенных в лаборатории Унгера по химической передаче памяти на млекопитающих (крысах, мышах), этот вопрос привлек исключительное внимание многих исследователей. Опыты Унгера и его сотрудников проводились в различных направлениях, в частности изучалось привыкание животных к физическим воздействиям (свету, звуку и т. д.). Экстракт, извлеченный из мозга тренированных животных, вводили нетренированным крысам, после чего последние слабее реагировали на свет или звук. Кроме того, в лаборатории Унгера проводились опыты с торможением врожденных склонностей. Известно, что



грызуны, в том числе и крысы, больше предпочитают темноту, чем свет. Крыс, которые в дальнейшем являлись донорами, тренировали в У-образном лабиринте: одна часть лабиринта была освещена, а другая оставалась затемненной. Крысы, естественно, направлялись в затемненную часть лабиринта, где они получали достаточно большую дозу электрического раздражения. В дальнейшем крысы, чтобы избежать электрошока, направлялись в освещенную часть лабиринта, причем как освещенная, так и затемненная части лабиринта менялись местами. Далее необученным крысам вводили экстракт, извлеченный из мозга тренированных животных. После инъекции крысы-реципиенты значительно быстрее направлялись в освещенную часть лабиринта, чем до инъекции. Напротив, крысы-реципиенты, которым вводился экстракт мозга от нетренированных животных, устремлялись в затемненную часть лабиринта и только после неоднократного воздействия электрошоком направлялись в освещенную часть лабиринта. Таким образом, при инъекции экстракта мозга тренированных животных реципиентам передавалась приобретенная способность избегать электрошока, подавляя врожденные склонности.

Были проведены и более сложные опыты. Например, крыс помещали на верхнюю узкую площадку, и естественным было их стремление перебраться на низкую и более широкую площадку, но там, т. е. внизу, они получали сильное электрическое раздражение. Животных-доноров тренировали до тех пор, пока они не переставали спускаться вниз на широкую площадку, чтобы избежать электрошока. Затем экстракт мозга тренированных крыс вводили необученным животным. Крысы-реципиенты после введения им экстракта мозга тренированных животных приобретали навыки доноров, и в дальнейшем большинство из них не спускалось вниз на широкую удобную площадку. Кроме того, были проведены опыты с перекрестным переносом навыков памяти, что достигалось путем тренировки двух групп крыс-доноров. У одних животных вырабатывали привыкание к свету, у других — к звуку. Экстракты мозга от каждой группы были введены двум группам реципиентов. Реципиенты быстро привыкали к звуку: если им был введен экстракт мозга, извлеченный из животных, тренированных на звук, то они почти не реагировали на звуковое раздражение. Если крысам инъецировали экстракт, извлеченный из мозга животных, тренированных к свету, то реципиенты быстро привыкали к свету и избегали темноты.

Следует отметить, что сначала эксперименты проводились с неочищенными экстрактами мозга. Затем Унгер и его сотрудники попытались выделить активные компоненты из экстракта мозга тренированных животных. Им удалось установить, что если экстракт мозга тренированных животных обработать хинотрипсином, то действие экстракта не проявляется. Тогда они



предположили, что активным компонентом экстракта мозга являются пептиды. Унгер и его сотрудники, используя гелевую фильтрацию на сефадексе G-25, аминокислотный анализ и другие методы, выделили пептид, названный «скотофобинном».

В настоящее время изучение роли нейропептидов в деятельности нервной системы составляет одну из актуальных проблем современной нейрохимии. Одним из аспектов исследований, привлекающим особое внимание нейрохимиков, является выяснение вопроса об участии нейропептидов в химическом переносе нейробиологической памяти. За последние годы проведены многочисленные экспериментальные исследования, свидетельствующие о возможности химической передачи «следов» (энграмм) памяти с участием специфических нейропептидов, продуцируемых различными отделами головного мозга — гиппокампом, гипоталамо-гипофизарной системой и т. д. — в процессе обучения (тренировки) животных. Характерной особенностью этих нейропептидов является их высокая специфичность, хотя они обнаружены и действуют в незначительных дозах — от 0,003 нг/г до 1—3 нг/г. Участие отдельных представителей нейропептидов в формировании и хранении памяти рассмотрено в гл. 7 (см. разделы 7.5 и 7.6).

С расширением наших знаний о биохимических основах нейробиологической памяти следует особо подчеркнуть несомненно огромную роль соответствующих ферментов и гормонов, обеспечивающих непрерывный и притом высокий уровень метаболизма в нервной системе, и особенно в головном мозгу: в энергетическом обмене, обмене аминокислот, распаде и биосинтезе нейромедиаторов, метаболизме специфических белков, РНК и липопротеидных комплексов, участвующих на всех стадиях нейробиологической памяти, включая и воспроизведение памяти.

Как известно, липиды играют важную роль в мембранах всех субклеточных элементов. Особенно велика роль фосфолипидов в нейрональных мембранах, где они представлены разнообразно и содержание их высоко, там же содержатся специфические липиды (ганглиозиды, фосфоинозитиды и др.). Кроме того, нервная система характеризуется исключительным разнообразием и большим количеством липопротеидных комплексов, входящих в сложные мембранные структуры нейронов, и особенно синаптических образований, роль которых, по видимому, велика в нейробиологической памяти. В этой связи представляет особый интерес вопрос об участии липидов в формировании и хранении долговременной памяти.

Ряд исследователей показали, что АХ стимулирует биосинтез фосфоинозитидов мозга. Кроме того, доказано наличие связи между фосфоинозитидами и АХ-рецепторами постсинаптических мембран. Особое внимание исследователей привлекают ганглиозиды нервной ткани. Учитывая своеобразное строение



ганглиозидов и их участие в иммунохимических реакциях, можно предположить, что ганглиозиды должны играть немаловажную роль в узнавании нейронов по их функциональному состоянию. Очевидно, роль ганглиозидов особенно отчетливо может проявиться на межклеточном уровне при взаимодействии нейронов, что в период тренировок и обучения, т. е. в процессе запоминания, способствует образованию ансамблей нейронов по функциональному признаку (см. гл. 4).

### 9.7. ИНФОРМАЦИОННАЯ ЕМКОСТЬ МАКРОМОЛЕКУЛ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Белки и нуклеиновые кислоты, являясь своеобразными специфическими макромолекулами, способны хранить огромную информацию. В настоящее время имеется экспериментальный материал, свидетельствующий о том, что РНК и специфические белки, вероятно, играют основную роль в формировании и хранении долговременной памяти. В этой связи приобретает особый интерес вопрос об информационной емкости РНК и специфических белков, в которых закодирована память. В свою очередь информационная емкость этих веществ, как нам кажется, может быть одним из основных количественных показателей потенциальных возможностей головного мозга.

Следует отметить, что проблема «Потенциальные возможности мозга человека» приобрела за последние годы особую актуальность. Это определяется многими факторами современной жизни, одним из них является огромный поток информации, поступающий в мозг человека, и другие факторы, на которых останавливались ранее.

Известно, что отдельные исторические личности, например, Александр Македонский, Юлий Цезарь, Наполеон и другие полководцы обладали исключительной памятью. В частности, они знали в лицо и по имени многих своих воинов, количество которых достигало десятков тысяч и более. Композиторы А. К. Глазунов и С. В. Рахманинов обладали феноменальной музыкальной памятью: услышав один раз большое сложное музыкальное произведение, они могли его воспроизвести. Прекрасная память А. А. Алехина также поражала современников. Он помнил тысячи шахматных партий, сыгранных не только им, но и другими шахматистами. Академик Л. С. Берг (биолог-географ) изумлял современников своей памятью, например, он знал по ихтиологии такие детали, которые не помнили даже специалисты, работающие всю жизнь в той или иной узкой области ихтиологии. Встречаются лица, которые способны запомнить огромные числа (так называемая «цифровая» память). Академик А. Ф. Иоффе (физик) помнил всю таблицу логарифмов и по памяти ею пользовался.

Как в прошлом, так и в настоящем поражают своей феноменальной памятью полиглоты (многие из них владеют 20—50 языками). Для полиглотов, как правило, овладение иностранным языком в короткий срок не представляет больших трудностей, что свидетельствует о большой информационной емкости головного мозга полиглотов. Однако следует отметить, что высокоразвитый интеллектуальный человек очень часто не обладает большим объемом памяти, в то же время лица, обладающие исключитель-



ной памятью, далеко не всегда являлись крупными учеными или общественными деятелями, так как объем памяти — количественная величина и не определяет всей сложности психической деятельности человека.

В настоящее время качественную сторону этих процессов, включая и память, биохимическими методами не удастся исследовать. Поэтому основное внимание может быть сосредоточено только на определении объема поступающей информации в головной мозг и количественных потенциальных возможностей головного мозга человека, а именно: на количестве нейронов в мозгу, наличии макромолекул РНК и специфических белков, которые могут участвовать в приеме (восприятии) информации, кодировании ее, а также в хранении долговременной памяти. Приведем некоторые расчеты.

Косвенные данные позволяют предположить, что суммарное количество информации, воспринимаемое из внешнего мира органами чувств человека, выражается огромной величиной, достигающей  $10^4$ — $10^5$  бит/с. Однако только незначительная часть информации в виде сенсорных раздражений поступает в мозг, кодируясь в нервные импульсы. Эта величина колеблется в пределах 10—100 бит/с. По-видимому, поток информации, воспринимаемой мозгом человека, в среднем не будет превышать 50 бит/с.

Процесс восприятия (приема) информации, как указывалось выше, называют электрической (оперативной) стадией. Эта стадия относится к 1-му этапу нейрологической памяти, т. е. к кратковременной памяти, длительность которой может быть от секунд до нескольких минут, но, как правило, не более 30 мин. При этом следует учесть, что в восприятии единицы информации в виде сенсорных раздражений участвует не один нейрон, а ансамбль (ассоциация) нейронов, образуя при этом замкнутую цепь, где происходит реверберация нервной импульсации. Участие нейронов в восприятии информации, вероятно, велико (десятки тысяч и более нейронов). Однако, если учесть, что в мозгу человека содержится примерно  $1 \cdot 10^{10}$ — $1,5 \cdot 10^{10}$  нейронов, то потенциальные возможности мозга человека превышают в  $10^6$ — $10^7$  раз потребности в нейронах, которые необходимы для непрерывного восприятия информации в период кратковременной памяти.

Как указывалось выше, в период формирования кратковременной и долговременной памяти большую роль играют синаптические образования. Установлено, что при различных функциях, количество контактов между нейронами возрастает. При этом число синапсов в одном нейроне колеблется в значительных пределах (30—1000). Следовательно, минимальное число синапсов в головном мозгу находится в пределах  $3 \cdot 10^{11}$ — $4,5 \cdot 10^{11}$ , а максимальное количество может достигать  $1 \cdot 10^{13}$ — $1,5 \cdot 10^{13}$ , т. е. такого количества синаптических образований



достаточно не только для электрической стадии (кратковременной памяти), но и для последующих стадий долговременной памяти.

Более сложно определить информационную емкость долговременной памяти, так как коды («следы») памяти могут сохраняться десятки лет и даже всю жизнь человека. При этом возникает вопрос, достаточно ли макромолекул (РНК и специфических белков), которые сохраняют столь длительное время в виде кодов долговременную память. Например, можно определить, какое количество информации (бит) сохраняется в головном мозгу.

Если условно принять, что человек будет воспринимать информацию из внешнего мира в течение 20 ч ежедневно на протяжении 80 лет, то можно вычислить количество информации, поступившей за всю жизнь человека:

$$X = 50 \cdot 3600 \cdot 20 \cdot 365 \cdot 80 = 1,1 \cdot 10^{11},$$

где: 50 — число бит информации, поступивших в 1 с; 3600 — число секунд в 1 ч. Величина  $1,1 \cdot 10^{11}$  считается оптимальной для современного человека. Следует при этом учесть, что из поступившей информации, по-видимому, только 1% превращается в долговременную память (Ашмарин).

Если предположить, что средняя величина емкости долговременной памяти в секунду составляет 0,5 бит, то на протяжении всей жизни человек воспримет  $X = 0,5 \cdot 3600 \cdot 20 \cdot 365 \cdot 80 = 1,1 \cdot 10^9$  бит информации. В последние годы ученые пытаются ответить на вопрос о потенциальных возможностях хранения долговременной памяти. Для того чтобы оценить, какова информационная емкость, т. е. количество макромолекул мозга человека (и прежде всего РНК и специфических белков), участвующих в хранении долговременной памяти, И. П. Ашмарин в своей монографии (1975) приводит следующие данные: один триплет РНК соответствует 4 битам, а один аминокислотный остаток в пептидах примерно равен 2 битам. Как указывается выше, весь объем информации долговременной памяти у человека, как правило, в среднем не превышает  $10^9$  бит, что соответствует  $2,5 \cdot 10^{11}$  дальтон для РНК мозга ( $1 \text{ дальтон} = 1,65 \cdot 10^{-24} \text{ г}$ ). Мы произведем расчет для РНК мозга. Что же касается белков, то аналогичный расчет сделать в настоящее время затруднительно, так как нет достоверных данных, какие из специфических белков нервной ткани принимают непосредственное участие в формировании и хранении долговременной памяти.

По данным Хидена, в цитоплазме больших нейронов содержится 650 пг РНК, что соответствует  $4 \cdot 10^{14}$  дальтон, а в ядре этих нейронов количество РНК равно 30 пг, это составляет  $1,8 \cdot 10^{13}$  дальтон. В других нейронах содержание РНК меньше, но суммарное количество РНК не ниже  $10^{13}$  дальтон. Таким образом, в одном нейроне, как правило, РНК содержится в  $10^3$ — $10^4$  раза больше, чем это необходимо, чтобы закодировать всю долговременную память объемом  $10^9$  бит.

Такое высокое содержание макромолекул РНК в нейронах можно объяснить следующим образом: 1) известно, что в нейронах, как и в других клетках, имеются различные типы РНК (мРНК, рРНК, тРНК), но они не все участвуют в кодировании и хранении памяти; 2) в настоящее время можно считать признанным, что на всех этапах и стадиях кратковременной и долговременной памяти участвуют не одиночные нейроны, а ансамбли нейронов, которые объединяются по функциональному признаку, и при повторности сенсорных раздражений



в образующиеся ансамбли может вовлекаться большое количество нейронов. Кроме того, по-видимому, не все нейроны и их синаптические образования участвуют в хранении долговременной памяти.

#### 9.8. ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ (ВОСПОМИНАНИЕ) ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Завершающим этапом нейрологической памяти является воспроизведение долговременной памяти. Эта стадия имеет большое значение для высших животных, но особенно велика ее роль для человека. Вся жизнь человека, включая и интеллектуальную деятельность его, теснейшим образом связана с актом воспроизведения долговременной памяти. Биохимические механизмы, участвующие в период стадии воспроизведения, не изучены. В настоящее время не имеется даже косвенных данных, позволяющих определить, какая часть хранящейся долговременной памяти воспроизводится.

Однако этот важнейший и решающий этап нейрологической памяти в достаточной степени обоснован физиологически. Как уже указывалось, прием информации, кодирование ее и дальнейшее закрепление в памяти возникают благодаря разнообразным эмоциональным переживаниям — радости, страху, особой заинтересованности в той или иной информации, а также зависят от других психологических и физиологических факторов. По-видимому, стадия воспроизведения долговременной памяти возникает не только при определенных эмоциональных переживаниях, но и сопряжена с рядом индифферентных моментов, сопутствующих возникновению долговременной памяти. Нам кажется, особый интерес представляет высказывание о памяти А. А. Ухтомского: «Память есть способность нервного аппарата сохранять в себе следы прошлых впечатлений и действий». А. А. Ухтомский указывает, что объем памяти есть совокупность хранения памяти, независимо от сознания и подпорогов своего сознания. Далее он пишет: «Память следует считать как подвижный фонд, от которого отправляется, которым руководится и на котором строится текущая нервная деятельность животного и человеческого сознания. Чем обширнее объем памяти и работоспособность памяти, тем дальновиднее организм в своей текущей деятельности и тем он осмотрительнее в своих реакциях». По мнению А. А. Ухтомского, память, оставаясь под порогом сознания, не является совершенно неподвижной и консервативной, она перестраивается, увязывается и складывается в новые комбинации, затем воспроизводится в сознании со значительными новообразованиями и изменениями. Что же касается стадии воспроизведения, то она совершается с тем большей полнотой и ясностью, чем острее впечатлительность, пластичность нервного аппарата. Предста-



вления А. А. Ухтомского о нейрологической памяти, высказанные еще 40—50 лет назад, исходя из современных физиологических, морфологических и биохимических данных являются наиболее адекватными.

Одним из характерных признаков нервной ткани является ее динамическое состояние. Кроме того, в нервной ткани, как и в других живых системах, происходят сложные процессы, обеспечивающие саморегуляцию, самоорганизацию и самосборку, что подтверждается существованием в биосистемах сложных ферментативных комплексов, обладающих не только каталитическими, но и регуляторными функциями.

В настоящее время многие исследователи (невропатологи, психиатры, нейрофизиологи и нейрохимики) признают, что локализация долговременной памяти является функцией всего мозга, или по крайней мере в хранении долговременной памяти участвует ряд областей коры больших полушарий. Так, например, при повреждении или временном выключении той или иной области коры больших полушарий не наблюдалось четких изменений или глубоких нарушений в долговременной памяти. Здесь уместно упомянуть об одной из интенсивно развивающихся областей оптики, а именно о голографии. Как нам кажется, представления о голографическом изображении в значительной мере помогают более «объемно» представить в пространстве структурно-функциональную систему своеобразной архитектуры, состоящую из ансамблей нейронов, связующим звеном которых являются синаптические связи. Характерной особенностью голографического изображения является возможность воспроизвести по отдельным фрагментам изображение в целом. При этом чем меньше фрагмент, тем менее четким будет изображение. Однако отдельные фрагменты не являются простым повторением, они, как правило, изображают объект в определенном ракурсе. А. А. Ухтомский писал, что след однажды пережитой доминанты, а подчас и вся пережитая доминанта может быть вновь в поле внимания, как только возобновится хотя бы частично раздражитель, ставший для нее адекватным. «И тогда с большим интересом отмечаем мы такие практически важные факты, что пережитые и переживаемые нами эмоции помогли и помогают запомнить, запечатлеть до деталей среду, в которой протекала в то время жизнь».

Все это позволяет заключить, что стадии консолидации, хранения долговременной памяти и эффективность ее воспроизведения в значительной степени зависят от функционального состояния, и особенно от доминантного состояния организма. Исходя из представлений А. А. Ухтомского о том, что доминанта является интегральным образом, объединяющим огромную массу поступающей информации, и из того, что нервная система способна к переинтегрированию предшествующего опыта, можно подойти к пониманию непрерывного процесса



нейрологической памяти и какой-то мере объяснить возможность образования сложных интегративно-регулирующих систем, обеспечивающих все этапы нейрологической памяти.

\* \* \*

Как видно из изложенного, изучение биохимических основ нейрологической памяти только начинается. В настоящее время наиболее актуальными и перспективными являются следующие вопросы: 1) выяснение роли генетического аппарата; 2) изучение биохимических механизмов, участвующих в стадиях нейрологической памяти на различных уровнях, начиная с молекулярного и кончая межклеточным уровнем; 3) исследование биохимических механизмов узнавания нейронов и механизмов самосборки, обеспечивающих образование ансамблей нейронов по функциональному признаку; 4) роль нейропептидов в механизме переноса памяти; 5) потенциальные возможности (объем памяти) головного мозга и т. д.

Потребуется исключительно много усилий, изобретательности не только со стороны нейрохимиков, нейрофизиологов, нейрофармакологов, психиатров, но и других специалистов, чтобы ответить на ряд поставленных вопросов, касающихся одной из наиболее трудных и в то же время наиболее актуальных и перспективных проблем, стоящих перед современным человеком.



## ПРИЛОЖЕНИЕ

### УГЛЕВОДЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Г л ю к о з а — одна из наиболее распространенных соединений в животном организме. Особенно велика ее роль в нервной ткани, так как она является не только основным энергетическим источником, но и предшественником ряда важнейших метаболитов головного мозга (аминокислот, ацетил-КоА и др.). Молекула глюкозы может иметь открытую форму — альдегидную и замкнутую — циклическую в виде пиранозного или фуранозного кольца. В настоящее время установлено, что ациклические формы глюкозы характеризуются наибольшей реакционной способностью. Свободная глюкоза во внеклеточных пространствах характеризуется также высокой обновляемостью.

Одной из важнейших реакций свободной глюкозы является ее фосфорилирование при участии гексокиназы и АТФ с образованием глюкозо-6-фосфата. В свою очередь глюкозо-6-фосфат — это важнейший предшественник, участвующий в разнообразных синтетических и энергетических процессах: в гликолизе, цикле трикарбоновых кислот, синтезе гликогена, аминокислот, жирных кислот, стероидов и т. д. Особое место в метаболизме глюкозы в головном мозгу занимает синтез гликогена, превращение глюкозы в глутамат и другие аминокислоты с участием ЦТК, а также образование пирувата с последующим окислительным декарбоксилированием его и образованием ацетил-КоА или превращение ее в лактат.

Раньше считали, что в головном мозгу содержится примерно 70—100 мг% глюкозы. В настоящее время с помощью более точных методов определения — ферментативного и хроматографического — установлено, что ее содержание в мозгу значительно ниже: оно колеблется в пределах 18—30 мг%, или 1—2 мкмоль/г. В опытах *in vivo* было показано, что на 1 г веса ткани головной мозг потребляет глюкозы больше, чем другие органы. Например, при введении  $^{14}\text{C}$ -глюкозы различными способами (подкожно, внутривенно, внутри-



брюшинно и т. д.) во всех случаях в головном мозгу обнаруживается значительно больше радиоактивной глюкозы, чем в других органах. Причем было установлено, что введенная  $^{14}\text{C}$ -6-глюкоза не только интенсивно потребляется, но и быстро используется. Если принять радиоактивную глюкозу в крови за 100%, то скорость обновления (полуоборот) ее, по нашим данным, в мозгу за 30 мин составит примерно 35%, а за 1 час — 50%.

На основании данных потребления глюкозы (0,1 мг/г/мин) и скорости кровотока (0,54 мл/г/мин) можно произвести расчет использования глюкозы мозгом в мкмольях, которое будет равно 0,30 мкмоль/г/мин. При различных функциональных состояниях организма потребление глюкозы отчетливо изменяется, это согласуется с данными А—В-разницы, полученными на ангиостомированных собаках. Как в нормальных условиях, так и при различных функциональных состояниях глюкоза является важнейшим энергетическим субстратом, за счет которого совершается специфическая деятельность нервной системы. Рядом исследователей было установлено, что в период нормального сна, и особенно наркоза, наблюдается повышение уровня глюкозы и гликогена. На основании этих данных они сделали заключение о том, что в этот период происходит усиление синтетических процессов, однако, по нашим данным, повышение содержания гликогена и глюкозы в головном мозгу может быть объяснено замедленным процессом распада. Это предположение находится в соответствии с пониженной биоэлектрической активностью в период наркоза. Такое объяснение согласуется с экспериментальными данными, полученными нами при использовании меченых веществ, в частности  $^{14}\text{C}$ -глюкозы. Ряд авторов (Гаевская и др.), изучая углеводный обмен в коре собак в период умирания и оживления, установили, что в первом случае процессы аэробного окисления отчетливо замедляются, а гликолиз повышается, в период оживления, наоборот, происходит резкое повышение аэробного окисления глюкозы. При резком охлаждении также идут интенсивно гликолитические процессы.

**Галактоза.** В животном организме, особенно в нервной ткани, из гексоз, кроме глюкозы, широко распространена галактоза (*D*-галактоза и ее аминированное производное — галактозамин). *D*-галактоза отличается от глюкозы только расположением Н и ОН-группы у 4-го углеродного атома. В свободном виде как галактоза, так и галактозамин встречаются в крайне ограниченном количестве. Они преимущественно входят в состав гликолипидов (цереброзидов, сульфатидов, ганглиозидов) и гликопротеидов, которые были уже рассмотрены, а также в состав других сложных соединений. В настоящее время доказано, что в животном организме происходит интенсивное взаимопревращение галактозы в глюкозу и обратно с участием кофермента УДФ:  $\text{УДФ-глюкоза} + \text{D-галактоза-1-фосфат} \rightleftharpoons \text{D-глюкоза-1-фосфат} + \text{УДФ-галактоза}$ .

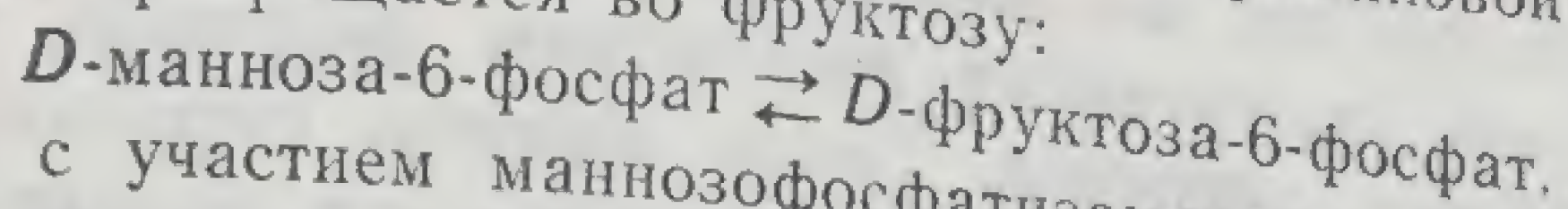
Это взаимопревращение идет с участием фермента УДФ-глюкозы —  $\alpha$ -*D*-галактоза-1-фосфат-уридилтрансфераза (гексозо-1-фосфат-уридилтрансфераза).

**Фруктоза,** также широко распространенная в животном организме, включая и нервную систему, входит в состав ди-, три- и полисахаридов. Фруктоза и ее фосфорные эфиры являются нормальными продуктами обмена. Ее содержание в свободном состоянии, т. е. в нефосфорилированном, как в открытой форме, так и в циклических (фруктозофуранозе и т. д.) сравнительно невелико. Фруктоза, фруктозо-6-фосфат, фруктозо-1-фосфат и фрукто-



30-1,6-дифосфат очень быстро утилизируются в животном организме с участием фермента фосфо-2-кето-дезоксиглюконатаальдозазы.

Манноза, в отличие от всех упомянутых гексоз, имеет ограниченное распространение как в целом животном организме, так и в нервной системе. От глюкозы она отличается расположением Н и ОН-групп у 2-го углеродного атома. В свободном виде манноза в животном организме не обнаружена. Она встречается в основном в составе нейрамининовой кислоты. Известно, что манноза превращается во фруктозу:



Это происходит с участием маннозофосфатизомеразы (*D*-манноза-6-фосфат-кетонизомеразы). Манноза может быть использована в опытах *in vitro* как энергетический источник.

Рибоза относится к группе альдопентоз — это эпимер арабинозы. В животном организме *D*-рибоза образуется в процессе пентозного цикла, где глюкоза-6-фосфат подвергается двухступенчатому окислению с образованием рибулоза-5-фосфата, который с участием фермента рибозофосфатизомеразы (*D*-рибо-5-фосфат-кетонизомеразы) превращается в рибозо-5-фосфат. Свободная рибоза усваивается организмом в незначительных количествах. *D*-рибоза является структурным компонентом нуклеотидов и РНК, а в состав ДНК входит дезоксирибоза, которая является производным рибозы (2-дезоксирибонуклеотидами и дезоксирибонуклеотидами. *D*-рибоза также входит в состав макроэргов АТФ, АДФ и других, значение которых трудно переоценить, так как в них аккумулирована химическая энергия.

Фукоза (6-дезоксигалактоза) относится к группе дезоксисахаров. Фукоза хорошо растворима в воде и нерастворима в органических растворителях. *D*-форма фукозы широко распространена в природе. Она входит в состав многих гликопротеидов не только крови, но и нервной ткани.

Гликоген представляет собой высокополимерное соединение (гомополимер). Молекулярный вес его  $5 \cdot 10^6$  —  $1 \cdot 10^7$ . Структура молекулы гликогена имеет разветвленную форму, состоящую из нескольких сотен тысяч глюкозных остатков. Основная масса глюкозных остатков (91—93%) соединена за счет 1-ой и 4-ой гидроксильных групп ( $\alpha$ -1-4-глюкозидная связь) и 7—9% глюкозидных остатков связаны за счет 1-го и 6-го гидроксила ( $\alpha$ -1-6-глюкозидная связь).

Керром в 30-х годах был разработан точный метод определения гликогена мозга. Было установлено, что в головном мозгу в норме содержание гликогена относительно постоянно, из расчета на глюкозу оно равно в среднем 70—110 мг%, при возбуждении и торможении наблюдалось изменение в содержании гликогена мозга. В работах Палладина с сотр. показано наличие в головном мозгу  $\alpha$ -амилазы, с участием которой происходит интенсивный гидролиз гликогена. В нашей лаборатории с помощью метода радиоактивной индикации, используя  $^{14}\text{C}$ -1-6-глюкозу, было установлено, что в коре больших полушарий происходит интенсивный биосинтез гликогена. Таким образом, подтвердилось предположение о том, что гликоген мозга является высоко метаболизирующим веществом, причем при сравнении удельная активность гликогена мозга выше, чем УА гликогена, содержащегося в других



органах (М. И. Прохорова, З. Н. Тупикова. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. Л., 1965, с. 42—65). Структура гликогена и его физиологическая роль освещены в ряде монографий и обзорных статей.

Для гликогена мозга характерно наличие большой разветвленности за счет  $\alpha$ -D (1-6)-глюкозы, причем в центре молекулы гликогена имеются ветвления из 3—4 глюкозных остатков, а боковые цепи имеют 6—8 глюкозных остатков. При большом ветвлении гликоген легко подвергается ферментативному расщеплению, так как чем больше свободных концов в молекуле гликогена, тем легче они подвергаются воздействию ферментов и тем быстрее происходит метаболизм гликогена. Таким образом, интенсивная обновляемость гликогена мозга непосредственно связана с его своеобразным строением, точнее разветвленностью. (Е. Л. Розенфельд. Механизм регуляции действия ферментов, участвующих в обмене гликогена. — В кн.: Химия и биохимия углеводов. М., 1969, с. 195—204).



## РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

### Глава 1

Владимиров Г. Е. Пути и методы исследования функциональной биохимии мозга. — Успехи биол. химии, 1954, т. 11, с. 51—65.

Мак-Ильвейн Г. Биохимия и центральная нервная система. М., 1962, с. 15—47.

Палладин А. В. Итоги и задачи исследований в области биохимии головного мозга. — В кн.: Биохимия нервной системы. Киев, 1954, с. 7—24.

Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М. Белки головного мозга и их обмен. Киев, 1972, с. 55—99.

Прохорова М. И. Методы изучения биохимии нервной системы. — В кн.: Нервная система, вып. 6. Л., 1965, с. 3—10.

### Глава 2

Владимиров Г. Е., Пантелеева Н. С. Функциональная биохимия. Л., 1965, с. 161—174.

Мак-Ильвейн Г. Биохимия и центральная нервная система. М., 1962, с. 22—109.

Прохорова М. И. Количественная характеристика энергетических затрат в головном мозгу. — В кн.: Нервная система, вып. 1. Л., 1960, с. 24—35.

Katzman R. Blood-brain barriers. — In: Basic neurochemistry. Boston, 1972, p. 327—341.

Kety S. S. The general metabolism of the brain in vivo: The metabolism of the nervous system. London, 1957.

Sokoloff L. Circulation and energy metabolism of the brain. — In: Basic neurochemistry. Boston, 1972, p. 299—326.

### Глава 3

Ещенко Н. Д., Прохорова М. И. Механизмы регуляции метаболизма лимонной кислоты в головном мозгу. — В кн.: Вопросы биохимии мозга. Т. XI. Ереван, 1976, с. 79—88.

Ещенко Н. Д., Путилина Ф. Е. Роль цикла трикарбоновых кислот в метаболизме головного мозга. — В кн.: Нервная система, вып. 13, Л., 1973, с. 23—41.

Ньюсхолм Э., Стар К. Регуляция метаболизма. М., 1977, гл. 1, 2, 3 и 6.

Певзнер Л. З. Функциональная биохимия нейроглии. Л., 1972, гл. 3.



- Dunn A. J., Bondy S. C. Functional chemistry of the brain, ch. 2. — In: The basic biochemistry of the brain. New York, 1974, p. 23—50.
- McIlwain H., Bachelard H. S. Biochemistry and central nervous system. London, 1971. 346 p.

#### Главы 4, 5

- Аврова Н. Ф., Обухова Е. Л. Современные представления о ганглиозидах. — Усп. совр. биол., 1975, т. 79, с. 33—48.
- Бергельсон Л. Д. Биологические мембраны. Факты, гипотезы. М., 1975. 130 с.
- Вейнберг А. Я., Самохвалов Н. И. Функция ганглиозидов и родственных соединений на поверхности мембраны. — Усп. биол. хим., 1974, т. 15, с. 208—231.
- Таранова Н. П. Миелин: происхождение, химический состав и молекулярная организация. — Усп. совр. биол., 1975, т. 80, с. 423—435.
- Туманова С. Ю. Специфические липиды нейрональных мембран. — Усп. совр. биол., 1976, т. 81, с. 193—208.
- Eichberg J., Hauser G., Karnovsky M. L. Lipids of nervous system. — In: The structure and function of nervous tissue: Biochemistry and disease. New York; London, 1969, p. 185—287.
- Johnston P. V., Roots B. T. Nerve membranes. New York, 1972. 271 p.
- Norton W. T. Chemistry of myelin in nervous system. — In: The basic neurosciences. New York, 1975, p. 467—483.
- Suzuki K. Chemistry and metabolism of brain lipids. — In: Basic neurochemistry. Boston, 1972, p. 207—227.
- Suzuki K. Sphingolipids of nervous tissue. — In: Nervous system: The basic neurosciences. New York, 1975, p. 591—600.
- Svennerholm L. Gangliosides. — In: Handbook of neurochemistry, vol. 3. New York, 1969, p. 425—452.
- Svennerholm L. Ganglioside metabolism. — Comprehensive biochemistry, vol. 1, 1970, p. 201—227.

#### Глава 6

- Ашмарин И. П. Биосинтез белка. — В кн.: Молекулярная биология. Л., 1978, с. 124—173.
- Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н. — Аксональный ток веществ при различных физиологических и патологических состояниях нервной системы. — Усп. совр. биол., 1976, т. 82, с. 417—436.
- Кричевская А. А., Броновицкая З. Г. и др. Нейрохимия. Ростов, 1977, с. 4—47.
- Палладин А. В. Биохимия головного мозга и психотропные вещества. Труды 4-й Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы. Тарту, 1969, с. 9—21.
- Палладин А. В., Смерчинская Л. С. Специфические для нервной системы кислые белки. — Укр. биохим. журн., 1971, т. 43, с. 398—406.
- Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М. Белки головного мозга и их обмен. Киев, 1972.
- Старостина М. В., Свиридов С. М. Нейроспецифический белок S-100. — Усп. совр. биол., 1977, т. 84, с. 176—188.
- Barondes S., Dutton G. R. Protein metabolism in the nervous system. — In: Basic neurochemistry. Boston, 1972, p. 229—244.
- Lajtha A., Marks N. Protein turnover. — In: Handbook of neurochemistry, vol. 5. New York, 1971, p. 551—661.
- Moore B. W. A soluble protein characteristic of the nervous system. — Biochem. Biophys. Res. Comm., 1965, vol. 5, p. 739—744.
- Richter D. Protein metabolism and functional activity. — In: Protein metabolism of nervous system. New York, 1970, N 9, p. 240—254.



### Глава 7

- ✓ Ашмарин И. П. Олигопептиды — модуляторы памяти и боли (структура, свойства, вероятное эволюционное происхождение). — ЖЭФБ, 1977, с. 570—578.
- Бунятян Г. Х. Механизмы образования аммиака в мозгу. — В кн.: Вопросы биохимии мозга. Т. VIII. Ереван, 1973, с. 5—17.
- Кричевская А. А., Броновицкая З. Г. и др. Нейрохимия. Ростов, 1977, с. 103—153.
- Палладин А. В., Белик Я. В., Полякова Н. М. Белки головного мозга и их обмен. Киев, 1972, с. 55—92.
- Сытинский И. А. Гамма-аминомасляная кислота — медиатор торможения в нервной системе. — Природа, 1973, № 1, с. 20—29.
- Lajtha A. Factors controlling the composition of amino acid compartment in the brain. — В кн.: Вопросы биохимии мозга. Т. VIII. Ереван, 1973, с. 239—255.
- Lowenstein J. M., Hollander V. The purine nucleotide cycle. The production of ammonia from aspartate by brain and muscle. — Там же, с. 49—62.

### Глава 8

- Зефирова Л. Н., Рахманкулова Г. М. Медиаторы. Обмен, физиологическая роль и фармакология. Казань, 1975. 175 с.
- Кричевская А. А., Броновицкая З. Г. и др. Нейрохимия. Ростов, 1977. 223 с.
- Манухин Б. Н. Рецепция в адренэргическом процессе. — В кн.: Физиология и биохимия биогенных аминов. М., 1969, с. 21—29.
- Михельсон М. Я., Зеймаль Э. В. Ацетилхолин. Л., 1970. 279 с.
- Сытинский И. А. ГАМК в деятельности нервной системы. Л., 1972. 199 с.
- Утевский А. М. Катехоламины как регуляторные и биокаталитические факторы в общей системе биогенных аминов. — В кн.: Физиология и биохимия биогенных аминов. М., 1969, с. 3—31.

### Глава 9

- Ашмарин И. П. Загадки и откровения биохимии памяти. Л., 1973, с. 77—138.
- Кометиани П. А. О биохимических основах памяти. — В кн.: Труды IV-й Всесоюз. конф. по биохимии нервной системы. Тарту, 1969, с. 22—45.
- Кометиани П. А. Биохимические основы памяти животных. — Усп. нейрохимии. Л., 1974, с. 7—18.
- Палладин А. В. Основы биохимии памяти. — Укр. биохим. журн., 1971, т. 43, с. 653—665.
- Хиден Х., Ланде П. В. Образование в нейронах и глии РНК, богатой аденином и урацилом, как результат генной стимуляции. Вопрос о транспорте РНК из глии в нейроны. — В кн.: Биохимия и функция нервной системы. Л., 1967, с. 21—34.
- Agranoff B. W. Learning and memory: Approaches to correlating behavioral and biochemical events. — In: Basic neurochemistry. Boston, 1972, p. 645—665.
- Hyden H. Biochemical aspects of learning and memory. — In: Human and mind. Amsterdam, 1967, p. 29—61.
- Ungar G., Desiderio D. M., Parr W. Isolation, identification and synthesis of specific-behaviour inducing brain peptide. — Nature, 1972, vol. 238, p. 129—208.



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Глава 1. Биохимические особенности нервной системы, пути и методы изучения	5
1.1. Особенности состава и метаболизма нервной ткани	—
1.2. Основные направления изучения биохимии нервной системы	8
1.3. Методы изучения биохимических процессов	11
Глава 2. Интенсивность метаболизма в интактном головном мозгу	16
2.1. Кровоснабжение головного мозга	—
2.2. Роль цереброспинальной жидкости и гемато-энцефалического барьера	18
2.3. Определение скорости мозгового кровообращения и обмена веществ по артерио-венозной разнице	22
2.4. Интенсивность метаболизма в головном мозгу целостного организма и в срезах мозга	25
Глава 3. Энергетический обмен головного мозга	31
3.1. Потребление головным мозгом кислорода и глюкозы	—
Особенности дыхания различных структур мозга	32
Потребление головным мозгом глюкозы	34
Гликоген как возможный энергетический источник в головном мозгу	37
3.2. Особенности регуляции реакций окисления глюкозы в головном мозгу	38
Гексокиназная реакция	40
Соотношение путей метаболизма глюкозо-6-фосфата в мозгу	42
Фосфофруктокиназная реакция	44
Конечные этапы гликолиза в головном мозгу	46
Лактатдегидрогеназная реакция	48
3.3. Цикл трикарбоновых кислот и механизмы, контролирующие его скорость в мозгу	49
Основные источники пула метаболитов ЦТК. Пути образования ацетил-КоА	50
Использование аминокислот в качестве предшественников компонентов ЦТК	54



Цитратсинтазная реакция и регуляция ее скорости в головном мозгу	57
Изоцитратдегидрогеназные реакции и их регуляция в головном мозгу	59
$\alpha$ -Кетоглутаратдегидрогеназная реакция	62
3.4. Компоненты дыхательной цепи митохондрий и их соотношение в головном мозгу	64
3.5. Макроэргические соединения в мозгу, интенсивность их образования и использования	66
Характеристика фонда макроэргических соединений мозга	—
Способы оценки скорости энергетического метаболизма в мозгу	67
Энергообеспечение специфических для головного мозга процессов	69

#### Глава 4. Липиды центральной нервной системы

4.1. Липиды — компоненты нейрональных мембран	75
Молекулярная организация мембран	—
Структура липидного бимолекулярного слоя	77
Фазовые переходы липидов	81
4.2. Особенности липидного состава головного мозга	82
Жирнокислотный состав липидов головного мозга	88
Накопление липидов в процессе развития головного мозга	90
Некоторые аспекты липогенеза в головном мозгу	93
4.3. Липидный состав нейрональных и глиальных мембран	94
Состав и структура ганглиозидов головного мозга	97
Метаболическая активность ганглиозидов	101
Функциональная роль ганглиозидов	104
Ганглиозидозы	105
	109

#### Глава 5. Миелин

5.1. Липидный состав миелина	111
5.2. Характеристика белков миелина	—
5.3. Формирование миелина нервной системы	115
5.4. Структура мембраны миелина	119
5.5. Демиелинизация	120
	126

#### Глава 6. Белки нервной системы

6.1. Основные этапы исследования белков в нервной ткани	130
6.2. Характеристика отдельных представителей простых белков головного мозга	—
Нейроальбумины и нейроглобулины	132
Основные белки нервной ткани (гистоны и негистоны)	—
Нейросклеропротеиды	136
6.3. Характеристика отдельных представителей сложных белков головного мозга	138
Липопротеиды	139
Протеолипиды	140
Фосфопротеиды	141
6.4. Специфические белки нервной ткани	143
Характеристика специфических кислых белков	144
Гликопротеиды и их функциональная роль	145
Сократительные белки нервной ткани	152
Катионные белки	156
6.5. Интенсивность метаболизма белков в различных отделах нервной системы	160
6.6. Метаболизм белков в субклеточных структурах нейронов	162
Биосинтез белка в рибосомальных фракциях нейронов	165
Метаболизм белков в цитоплазме и в ядрах нейронов	166
Метаболизм белков в митохондриях нейронов	169
	171
	269



Метаболизм белков в синаптических образованиях	172
Роль аксоплазмы и аксонального тока в деятельности нейронов	176
6.7. Изменение интенсивности обмена белков нервной системы при различных функциональных состояниях организма	178
<b>Глава 7. Аминокислоты и пептиды головного мозга</b>	<b>183</b>
7.1. Содержание, локализация и транспорт свободных аминокислот	—
7.2. Метаболизм индивидуальных аминокислот	186
Глутамат и аспартат	—
N-ацетиласпарагиновая кислота	190
Гамма-аминомасляная кислота	191
Глицин и пути его обмена	192
Серусодержащие аминокислоты	194
7.3. Нейротрансмисмиттерная роль аминокислот	196
7.4. Компарментализация обмена аминокислот	—
7.5. Олигопептиды нервной ткани (нейропептиды)	199
Гистидинсодержащие пептиды мозга	200
Гамма-глутамилпептиды мозга	—
N-ацетилированные нейропептиды	202
Вещество P, его строение и физиологическое действие	203
7.6. Гипофизарные и гипоталамические пептиды и их функциональная роль в ЦНС	204
Влияние пептидов на адаптивные поведенческие реакции	—
Нейрогипофизарные пептиды, действующие на нейрональную возбудимость	205
Действие либеринов и статинов на нейрональную активность	207
Пептиды и болевые реакции	209
Пептиды-коннекторы	211
<b>Глава 8. Нейромедиаторы</b>	<b>213</b>
8.1. Ацетилхолин	—
Содержание, биосинтез и секреция ацетилхолина в нервной системе	—
Холинорецепторы и их взаимодействие с ацетилхолином	216
Ацетилхолинэстераза, свойства и механизм инактивации ацетилхолина	217
8.2. Биогенные амины	220
Катехоламины	—
Участие моноаминоксидазы в превращениях катехоламинов	223
8.3. Серотонин и его участие в функциональной деятельности головного мозга	227
8.4. Гамма-аминомасляная кислота	229
8.5. Аминокислоты — возможные нейромедиаторы ЦНС	230
<b>Глава 9. Биохимические основы неврологической памяти</b>	<b>233</b>
9.1. Неврологическая память	234
9.2. Характеристика неврологической памяти	235
9.3. Биохимические основы кратковременной памяти	240
9.4. Характеристика промежуточного этапа неврологической памяти (стадии консолидации)	243
9.5. Биохимические основы долговременной памяти	246
Роль РНК в формировании долговременной памяти	—
Роль белков в формировании долговременной памяти	248
Биохимические процессы, происходящие в период хранения долговременной памяти	252



9.6. Химический перенос нейропептидов	нейрологической памяти с участием	—
9.7. Информационная емкость макромолекул головного мозга		255
9.8. Воспроизведение (воспоминание) долговременной памяти		258

Приложение

Рекомендуемая литература

	261
	265



ИБ № 927

Нейрохимия

(Избранные разделы)

Учебное пособие

Редактор Л. П. Макаренкова

Техн. редактор А. В. Борщева

Корректоры И. Л. Кудряшова, Т. Г. Павлова

Сдано в набор 14.02.79.

Формат 60×90<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.

Печать высокая.

Подписано к печати 06.08.79.

Бум. тип. № 1.

Печ. л. 17.

Тираж 2717 экз.

Заказ 57.

М-05929.  
Гарнитура литературная.

Уч.-изд. л. 17,8.

Цена 90 коп.

Издательство ЛГУ им. А. А. Жданова,  
199164, В-164, Ленинград, Университетская наб., 7/9.

Гипография Издательства ЛГУ, 199164, Ленинград, В-164, Университетская наб., 7/9.

На с  
тать

Зак.



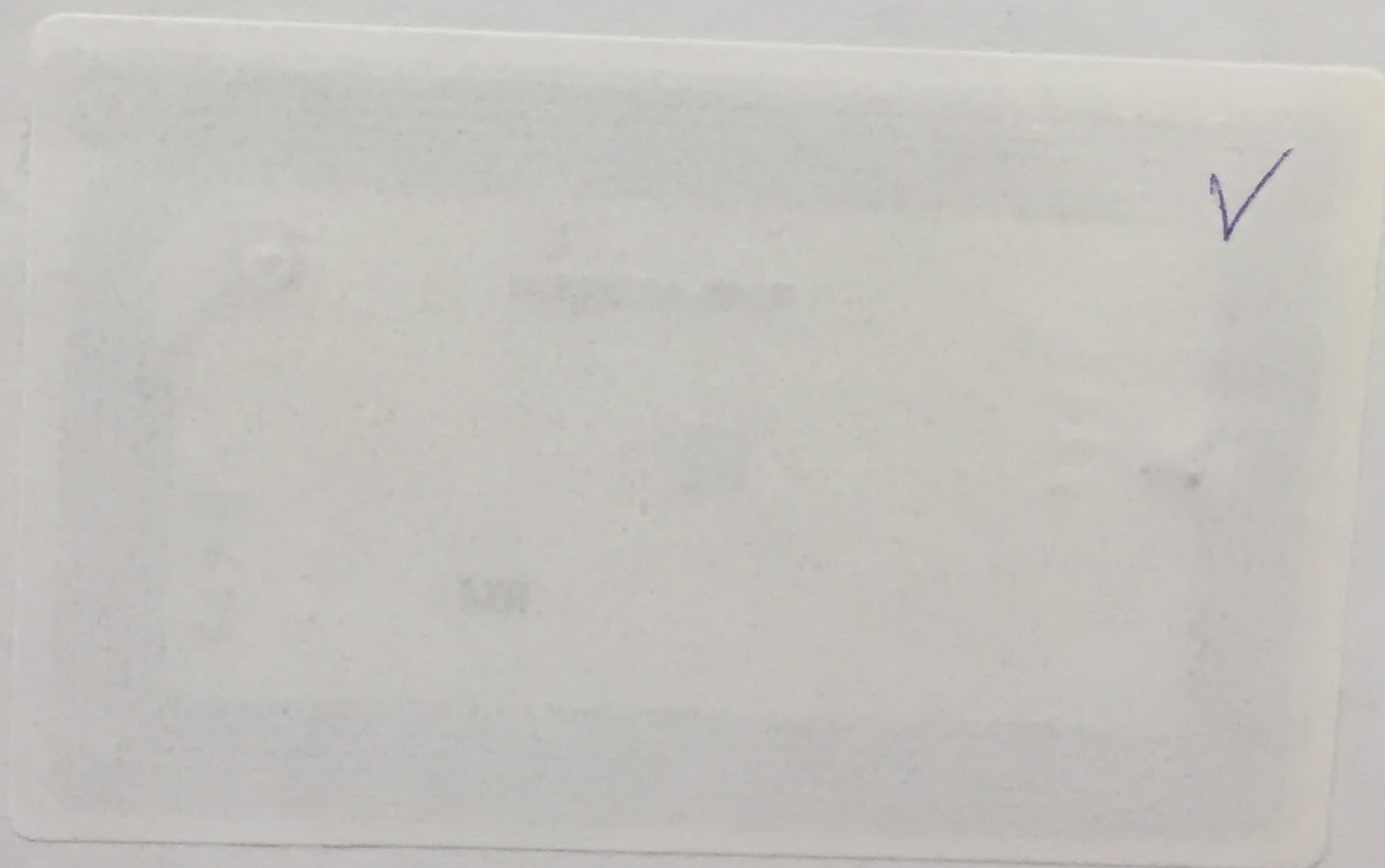
### ЗАМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ

На стр. 149 в подписях к рис. 20 и 21 вместо (Глебов, 1976) следует читать (Старостина, 1977).

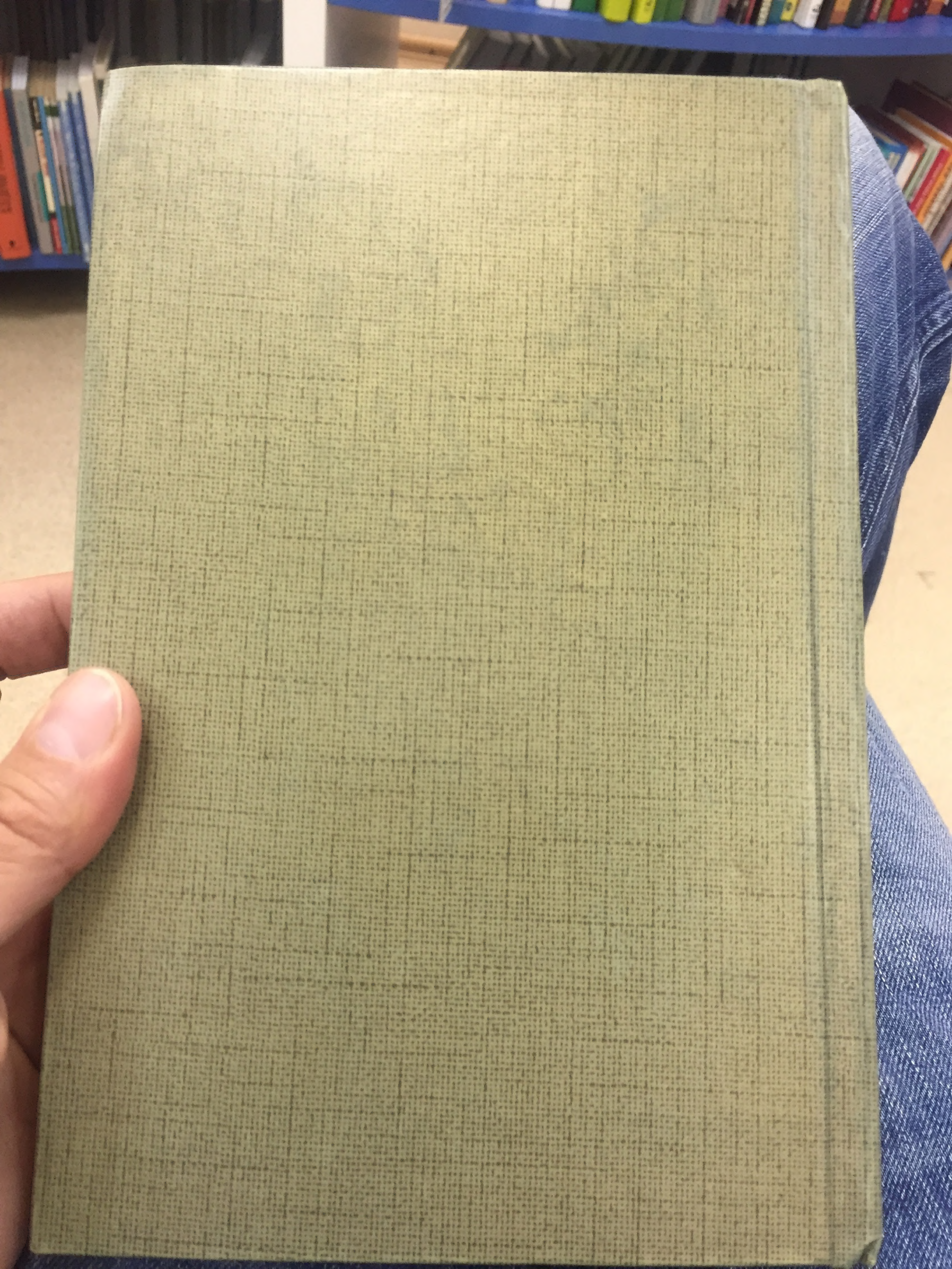
---

Зак. 57











HELEN PROXIMA